

Aus der Klinik und Poliklinik für Kleine Haustiere
an der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. L. Felix Müller

Hämatologisches Laboratorium (Leiter: Prof. Dr. H. Niepage)

Karyometrische Untersuchungen an Zellen normaler
und lymphadenotischer Lymphknoten vom Hund

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin

an der

Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Heidrun Busch
Tierärztin aus Nürnberg

Berlin 1968
Journal-Nr. 613



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Klinik und Poliklinik für Kleine Haustiere
an der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. L. Felix Müller

Hämatologisches Laboratorium (Leiter: Prof. Dr. H. Niepage)

Karyometrische Untersuchungen an Zellen normaler
und lymphadenotischer Lymphknoten vom Hund

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin

an der

Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Heidrun Busch
Tierärztin aus Nürnberg

Berlin 1968
Journal-Nr. 613

Gedruckt mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin



Dekan:	Prof. Dr. G. Bergmann
Referent:	Prof. Dr. H. Niepage
Korreferent:	Prof. Dr. W. Renk

Tag der mündlichen Prüfung: 13. 2. 1968

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Schrifttum	2
Eigene Untersuchungen	12
Material und Methode	12
Ergebnisse und Besprechung der Befunde	16
lymphadenotischer Lymphknoten	16
normaler Lymphknoten	37
Wirkung von Cytostatica auf den Zellkern	44
Zusammenfassung	68
Literaturverzeichnis	69

Einleitung

Vom Beginn hämatologischer Forschung an gehört der Lymphocyt zu den am meisten umstrittenen Blutzellen. Das liegt nicht zuletzt an seinem wenig differenzierten Erscheinungsbild. Morphologische Unterschiede, insbesondere solche der Größe, sind bei der Betrachtung einzelner Zellen erkennbar, ohne Messung jedoch nicht zu objektivieren. Wird die Messung auf eine große Zahl von Zellen ausgedehnt, so können sich typische Meßwerte durch ihre Häufigkeit herausheben. Bei karyometrischen Untersuchungen sind so Gesetzmäßigkeiten der Zellkerngröße aufgedeckt worden, die mit dazu geführt haben, daß heute von zahlreichen Autoren die Existenz zweier Arten von Lymphocyten angenommen wird.

Bei den lymphatischen Leukosen, die gewöhnlich mit einer Vergrößerung der Lymphknoten einhergehen, treten im Lymphknoten und z.T. auch im Blut Zellen auf, die den regulär vorkommenden Lymphocyten ähnlich sind und daher vielfach Lymphoidocyten genannt werden. Es war meine Aufgabe, an Lymphknotenzellen lymphadenotischer und normaler Lymphknoten des Hundes Kernmessungen durchzuführen, um zu erkunden, ob Gesetzmäßigkeiten der Zellkerngrößen bestehen und um die Kerngrößen der Zellen lymphadenotischen Gewebes mit denen normaler Lymphknoten zu vergleichen.

S c h r i f t t u m

R. HERTWIG hatte 1903 gefunden, daß das Verhältnis der Massen von Zellkern und Cytoplasma bei Zellen gleicher Art nahezu konstant war. In der Protomerentheorie von HEIDENHAIN (1907) wurde daraus auf die Konstanz im Verhältnis bestimmter Untereinheiten der Zelle geschlossen. JACOBJ (1925, 1931, 1942) stellte Untersuchungen über die Kerngrößen bei Zellen verschiedener Gewebsarten und Tierarten an, die ihn das nach ihm benannte JACOBSche Gesetz finden ließen, von dem noch später die Rede sein wird.

Seit dieser Zeit wird die K a r y o m e t r i e in der Cytologie mit verschiedener Zielsetzung häufig angewandt. Es gibt mehrere Methoden der technischen Durchführung, und auch die Auswertung der Meßergebnisse kann unterschiedlich erfolgen.

Messungen können direkt am Mikroskop oder indirekt an Reproduktionen durchgeführt werden (LENNERT & REMMELE 1958). Eine d i r e k t e Methode ist die Meßtechnik mit dem Okularschraubenmikrometer. Durch Drehung einer Meßtrommel, die sich seitlich am Mikrometer befindet und in 100 Teilstriche eingeteilt ist, läßt sich ein Fadenkreuz über das Gesichtsfeld bewegen. Abhängig von der Vergrößerung entspricht ein Teilstrich einer bestimmten Strecke im Gesichtsfeld, die durch Vergleich mit einem Objektmikrometer festgestellt wird (Eichung). Von den für unsere Untersuchungen herangezogenen Arbeiten wurden die von LENNERT & REMMELE (1958), SCHULZE (1962), WEILAND (1965) und TREPPENHAUER (1965) mit dem Okularschraubenmikrometer durchgeführt.

Die entscheidende Größe für das JACOBSche Gesetz ist das Kernvolumen. Es kann über die Kugelformel aus einem oder über die Formel des Rotationsellipsoides aus zwei senkrecht aufeinanderstehenden Durchmessern des Kernes berechnet werden. Besonders im zweiten Fall ist die direkte Methode umständlich und zeitraubend. Zur Messung zweier Durchmesser muß entweder das Objekt oder das Meßokular um 90° gedreht werden. Dazu ist eine sehr genaue Zentrierung Voraussetzung, die oft nur schwer zu erreichen ist. Die Methode ist jedoch genau und

bietet bei Verwendung eines starken Objektives den Vorteil der guten Auflösung.

Für die Reproduktion bei der i n d i r e k t e n Meßtechnik finden zwei Möglichkeiten Anwendung. Die Nachzeichnung der Kernkontur an der Projektion, die von JACOBJ (1925), FREERKSEN (1933), KRAUSE (1935), REPSILBER (1935), GRUNDMANN (1952) und POPKES (1955) angewandt wurde, ergibt reproduzierbare Ergebnisse. Es kann jedoch nur mit kleinen Vergrößerungen gearbeitet werden, da sonst infolge Lichtverlustes die Randpartien nicht auswertbar sind. NEUMANN (1963) betont, daß die Auflösungsfähigkeit des Mikroskops bei diesem Verfahren nicht voll ausgenutzt wird.

Die Photographie als Reproduktionsmethode ist einfacher und weniger zeitraubend als die Projektion mit nachfolgender Zeichnung (HILLER 1965). Pro Gesichtsfeld wird eine Aufnahme gemacht. Da das Verfahren relativ kostspielig ist, ist die Aufnahme mit einem gering vergrößernden Objektiv (z.B. Obj. 40) angezeigt, um möglichst viele Zellen auf jedem Bild zu haben. Zur Vermeidung von Randunschärfen ist die Verwendung eines Plan-Objektives empfehlenswert. Die Eichung erfolgt an Hand eines Objektmikrometers, das für jeden Film einmal mitphotographiert wird. Jede beliebige Nachvergrößerung ist möglich, die Messungen sind einfach und schnell durchzuführen, die Ergebnisse sind nachprüfbar und reproduzierbar (LENNERT & REMMELE 1958). HILLER (1965) weist auf den Nachteil hin, daß unregelmäßig gelagerte Kerne ungleichmäßig scharf erscheinen und daher nicht immer exakt zu messen sind. Diese Methode wandten GRUNDMANN (1952), POPKES (1955) und LENNERT & REMMELE (1958) bei ihren Messungen an Lymphocyten an.

Auf den photographischen Vergrößerungen kann man mit dem Stechzirkel, dem Lineal oder einer Schublehre einen oder zwei Durchmesser der Zellkerne bestimmen oder auch die sichtbare Oberfläche der Kerne planimetrisch erfassen.

Die Messung beim photographischen Verfahren wurde vereinfacht durch den Teilchengrößenanalysator (TGZ 3-Zeiß). Die photographische Vergrößerung wird auf einen Tisch gelegt, in dessen Mitte sich eine von unten beleuchtete Kreisfläche befindet, deren Größe durch eine Irisblende verändert werden kann. Sie

wird mit dem zu messenden Zellkern in Übereinstimmung gebracht. Durch Kontaktschluß wird die Kerngröße automatisch registriert und einer der vorgegebenen 48 Größenklassen zugeordnet. Man erhält auf diese Weise schnell Häufigkeitsverteilungen von großen Meßreihen. Für die Karyometrie ergibt sich allerdings ein Nachteil daraus, daß bei geringem Größenunterschied der Zellkerne starke Vergrößerungen notwendig sind, wenn man die vorgegebenen Klassen voll ausnutzen will. HILLER (1965) weist auf die relativ ungenaue Bestimmung unregelmäßig geformter Zellkerne hin.

Mehr noch als die Meßtechnik ist die Präparation der gemessenen Objekte von Einfluß auf das Meßergebnis. Ausgangsmaterial für karyometrische Untersuchungen können histologische Schnittpräparate und Ausstrich-, bzw. Tupfpräparate sein. Für ein Schnittpräparat muß das betreffende Gewebe eingebettet und fixiert werden. Dabei schrumpfen die Zellkerne erheblich (GRUNDMANN 1952). NEUMANN (1963) stellte fest, daß alle Fixierungsflüssigkeiten eine Nivellierung der Kerngrößenunterschiede bewirken. Auch muß die Dicke der Schnitte auf die Größe der Kerne abgestimmt sein. Ist sie geringer als der Kernhalbmesser, so ist die Wahrscheinlichkeit, Kernanschnitte zu messen, größer als die, den Durchmesser zu treffen. Man erhält infolgedessen zu kleine Werte (HILLER 1965). JACOB (1942) hält eine Schnittdicke von 5 - 8 μ für günstig; Kugelhappen färben sich hierbei mangels Chromatinmasse nur schwach und sind meist verzerrt. Ein Vorteil des Schnittpräparates gegenüber dem Ausstrich ist die natürliche Lagerung der Zellen in ihrem Gewebszusammenhang.

Die Behandlung von Tupfpräparaten und Ausstrichen ist vergleichsweise schonend und verkleinert die Kerngröße nicht wesentlich. Allerdings spielt auch hier die Schichtdicke eine Rolle. Zellen in den dünnen Randpartien sind gewöhnlich flach ausgebreitet und erscheinen größer als solche, die in dichtem Milieu mechanisch weniger beeinflußt wurden und auch wohl dank der späteren Trocknung eher Gelegenheit hatten, vor dem Absterben ihre Oberfläche durch Annahme der Kugelform zu verkleinern (NIEPAGE 1960). GRUNDMANN (1952) empfiehlt, für die

Messung stets ähnlich dichte Stellen im Präparat zu benutzen. TAKEDA & NAKAI (1951) fanden im Mittel für den Lymphocytenkern $5,82 \mu$ in dichten und $9,26 \mu$ in dünnen Partien des Ausstrichs als Durchmesser. Auf die besondere Empfindlichkeit von Leukosezellen gegenüber mechanischem Einfluß weist LEIBER (1961) hin. Trotz dieser Einwände hat sich die Karyometrie an Ausstrich- und Tupfpräparaten bei sachgemäßer Anwendung bewährt, wie aus zahlreichen Untersuchungen hervorgeht (GRUNDMANN, 1952; HEIBERG, 1953; GRUNDMANN, 1957; SCHERER, 1959, SCHULZE, 1962 und WEILAND, 1965).

Eine genaue Berechnung des Kernvolumens auf Grund von Durchmesserbestimmungen ist nicht möglich, weil die Zellkerne weder einem Rotationsellipsoid noch einer Kugel genau gleichen. Für den Vergleich von Kernvolumina untereinander ist diese Einschränkung jedoch grundsätzlich bedeutungslos. Natürlich muß ein Vergleich in der Dimension des Volumens, d.h. der 3. Potenz des Längenmaßes erfolgen. Eine Proportionalität bestimmter Kernvolumina ergibt sich jedoch bei systematisch verzerrten Werten nicht anders als bei absolut genauer Bestimmung, da die Abänderung als Faktor die Proportionalität nicht beeinflusst. Sowohl die Kugelformel nach Bestimmung nur eines oder mit Verwendung des Mittels aus zwei Durchmessern, als auch die Formel des Rotationsellipsoides, bei dem der größere Durchmesser als Drehachse gedacht wird, wurden zur Berechnung des Kernvolumens benutzt. Manche Autoren (VOSS, 1951; NEUMANN, 1963) gehen von der planimetrischen Bestimmung der Fläche aus, andere (POPKES, 1955; HILLER, 1965) verzichten ganz auf die Berechnung des Volumens und begnügen sich mit der Durchmesser- oder Flächenbestimmung.

Zur Darstellung größerer Meßreihen dient die Häufigkeitsverteilung. Ursprünglich wurde auch in der Karyometrie die arithmetische Häufigkeitsverteilung gebraucht, so z.B. von JACOBJ. Wenn die Klasseneinteilung der Meßgenauigkeit entspricht, gibt sie die Häufigkeit jeder festgestellten Größe einzeln an; es können aber auch durch größeren Umfang der Klassen mehrere aufeinanderfolgende Häufigkeiten zusammengefaßt werden. Für die Abbildung der Größenverteilung von Kernvolumina ergeben sich bei dieser Darstellungsweise technische Schwierigkeiten.

Da die arithmetisch zunehmenden Durchmesserwerte für die Berechnung des Volumens kubiert werden müssen, ist die Abszisse der arithmetischen Häufigkeitsverteilung nicht gleichmäßig dicht besetzt, sondern es treten mit zunehmenden Volumina immer größere Lücken auf. Oft ergibt sich zwischen dem kleinsten und dem größten Volumenwert eine so große Differenz, daß die Abszisse überlang sein muß, um alle Häufigkeiten darzustellen.

Hinzu kommt, daß nach dem JACOBJSchen Gesetz bestimmte Kernvolumina besonders häufig vorkommen. Sie stehen untereinander in einem geometrischen Größenverhältnis. Deshalb hat HINTZSCHE 1945 eine diesen Verhältnissen Rechnung tragende Darstellungsweise angegeben, die zur Abbildung karyometrischer Befunde in jüngerer Zeit vorwiegend benutzt wird. Sie beruht auf einer geometrischen Einteilung der Abszisse, bei der die sog. Hauptklassen, deren Mittelwerte sich wie $1 : 2 : 4$ usw. verhalten, äquidistant aufgetragen werden und zusätzlich zwischen je zwei Hauptklassen noch drei ebenfalls geometrisch zunehmende Zwischenklassen vorgesehen sind.

Ein anderes Auswertungsverfahren benutzt NIEPAGE (1967). Es wird auch bei der vorliegenden Arbeit angewendet und unten näher beschrieben.

Ausgehend von den erwähnten Vorstellungen von R. HERTWIG und HEIDENHAIN führte JACOBJ (1925) an Zellen verschiedener Gewebe, zuerst an Leberzellen, später auch an Lymphocyten aus Thymus, Lymphknoten und Magenschleimhaut, Kernmessungen durch. Er berechnete die Kernvolumina nach der Kugelformel und legte die Ergebnisse in arithmetischen Häufigkeitsverteilungen dar. JACOBJ erkannte, daß bei bestimmten Kerngrößen Häufungen auftraten, und zwar bei Volumina, die sich zueinander wie $1 : 2 : 4 : 8$ usw. verhielten. Die Gipfel waren unterschiedlich hoch. Diejenige Kernklasse, die den höchsten Gipfel aufwies, nannte er "Regelklasse". Die Regelklasse der Leberzellkerne des Menschen bezeichnete er mit K 1. Außer der Regelklasse kamen kleinere und größere Klassen vor, die von K $1/4$ (Thymuszellen, Erythrocytenvorstufen) bis K 32 (Ganglienzellen) reichten. JACOBJ schloß aus seinen Ergebnissen auf ein rhythmisches Wachstum der Zellkerne, bei dem der Kern mit jedem Wachstums-

schritt das Doppelte seiner vorherigen Größe erreicht. Zahlreiche Autoren haben bei karyometrischen Untersuchungen an verschiedenem Zellmaterial das rhythmische Verdopplungswachstum bestätigen können. Hier sollen nur die Ergebnisse an Lymphocyten besprochen werden.

JACOBJ selbst fand 1931 eine Bestätigung seiner ersten Ergebnisse u.a. an Thymuslymphocyten, die die Regelklasse K $1/4$ aufwiesen. FREERKSEN (1933) sah beim Kaninchen in Thymus-, Lymphknoten- und Milzpräparaten vier Maxima, die einer geometrischen Reihe folgten, beim Meerschweinchen dagegen nur drei. Hier fehlte die niedrigste Kernklasse, die er im Gegensatz zu JACOBJ mit K 1 bezeichnet. VORBECK (1935) führte Kernmessungen an lymphatischem Gewebe des Menschen durch. Er fand in den Keimzentren drei Kernklassen, deren Volumina im Verhältnis 1 : 2 : 4 standen. KRAUSE (1935) kam zu ähnlichen Ergebnissen bei Tonsillenmaterial des Menschen. In den soliden Sekundärknötchen fand er drei Maxima, die dem JACOBJSchen Gesetz entsprachen. Später konnten LENNERT & REMMELE (1958) an Lymphknotenzellen des Menschen weitgehende Übereinstimmung mit JACOBJS Kernklassen finden. Sie stellten in den Keimzentren sechs Kernklassen fest:

die "basophile Stammzelle" K 4 , "große Germinoblasten" K 2 , "mittlere Germinoblasten" K 1 , "kleine Germinoblasten" K $1/2$, "junge Lymphocyten" K $1/4$ und "alte Lymphocyten" mit K $1/8$. In der Pulpa wurden nur die Kernklassen K $1/2$ und K $1/4$ beobachtet. Im Gegensatz zu Befunden von GRUNDMANN stimmten bei dieser Untersuchung die Kernvolumina der Keimzentrumszellen mit denen der Pulpazellen überein. GRUNDMANN entdeckte bei Kernmessungen an lymphatischem Gewebe der Ratte (1957, 1958) und des Menschen (1959) zwei Abstammungsreihen der Lymphocyten, die er als Follikellymphocyten und Sinuslymphocyten unterschied. Die Entwicklung geht über je sechs morphologisch charakterisierte Kernklassen, die zwei Verdopplungsreihen nach JACOBJ angehören.

Über Kernmessungen an Lymphocyten von Haustieren liegen auch im veterinärmedizinischen Schrifttum einige Arbeiten vor. 1959 bestimmten v.MICKWITZ & NIEPAGE die Durchmesser von Kernen der Blutlymphocyten von Rindern und fanden dabei eine zweigipflige

Häufigkeitsverteilung. Lymphocyten mit großem Kerndurchmesser waren häufiger in lymphocytenreichem Blut. SCHULZE (1962) untersuchte die Lymphocyten im Blut klinisch gesunder Hunde karyometrisch und berechnete das Kernvolumen als Rotationsellipsoid. Bei Gruppierung der Hunde nach der durchschnittlichen Lymphocytenkerngröße ergaben sich für die Gruppe mit den vorwiegend höheren Kernvolumina korreliert niedrigere Hämatokritwerte, ein höherer Anteil von reticulären Zellen im Sternalpunktat und niedrigere Werte der Eosinophilen im Blut. Die arithmetische Häufigkeitsverteilung aus dem Gesamtmaterial von 2600 Kernvolumina hatte einen Gipfel über den Größen $121 - 140 \mu^3$ und einen kleinen Nebengipfel bei $281 - 300 \mu^3$. SCHULZE spricht die Vermutung aus, daß sie zwei dem JACOBSschen Gesetz folgende Lymphocytengenerationen wiedergeben.

TREPPENHAUER (1965) unternahm mit Hilfe der Häufigkeitsverteilung von HINTZSCHE die Analyse der Kernvolumenverteilungen von Lymphocyten aus dem Blut von Hunden, denen eine Lymphocytose gemeinsam war. Er richtete die HINTZSCHE-Verteilungen auf die von SCHULZE als Maxima gefundenen Werte aus. Sein Material ließ sich einer solchen Verteilung nicht vollkommen anpassen, so daß er zu der Annahme geführt wurde, es könnten auch beim Hund Lymphocyten verschiedener Abstammungsreihen im Blut vorhanden sein.

Ausgehend von der Überlegung, daß ein Kollektiv von Zellkernen mit einer typischen Größe wegen der methodischen und der biologischen Varianz ein normal verteiltes Häufigkeitsbild liefern muß, versuchte NIEPAGE eine graphische Aufteilung der arithmetischen Kernvolumenverteilung des Materials von SCHULZE in einzelne Normalverteilungen. Die Gesamtverteilung erwies sich als zerlegbar in sechs Normalverteilungen, deren Maxima bei 114, 210, 400 μ^3 , bzw. 78, 150 und 295 μ^3 lagen. Danach würden die Lymphocyten im Blut des Hundes zwei Zellreihen angehören, deren jede dem JACOBSschen Gesetz folgt und regulär im Blut mit drei Klassen vertreten ist. Mit anderer Meßtechnik, einem anderen Auswertungsverfahren und an Material von anderen klinisch gesunden Hunden wurden ganz ähnliche Werte als typische Größen für Zellkerne von Lymphknotenzenellen

gefunden (NIEPAGE 1967). Damit ist sehr wahrscheinlich gemacht, daß es beim Hund zwei Zellreihen von Lymphocyten gibt, von denen jede mit typischen Kerngrößen vorkommt⁺. Innerhalb einer jeden Zellreihe gilt das Gesetz von JACOBJ.

JACOBJ dehnte 1942 seine Untersuchungen auch auf die Zellen bösartiger Geschwülste aus. Er konnte dabei das Gesetz des rhythmischen Verdopplungswachstums häufig auch an den Zellkernen maligner Tumoren nachweisen. Nie fand er das Regelkernvolumen kleiner als es im Muttergewebe war, häufig aber größer. Bei Mammacarcinomen der Frau und bei Lebercarcinomen des Menschen ist nach SCHAIRER (1935), bei Plattenepithelcarcinomen des Menschen nach DEUTICKE (1935) die Volumenrelation erhalten. Im Vergleich zu Häufigkeitsverteilungen der Kernvolumina entsprechender gesunder Gewebe sahen SCHAIRER und DEUTICKE eine Rechtsverschiebung der Maxima im Sinne einer Zellvergrößerung. Die Gipfel fielen flacher aus und die Häufigkeitsverteilungen waren breiter.

Ähnliche Verhältnisse kommen nach REPSILBER (1935), GRUNDMANN (1952) und HEIBERG (1953) auch bei leukotischen Lymphknoten des Menschen vor. Auch hier ist die Regelklasse oft in eine höhere Volumenklasse verschoben. GRUNDMANN macht dafür Mengenunterschiede des Kernsaftes verantwortlich.

WEILAND (1965) führte Kernmessungen an Lymphocyten im Blut von 7 leukosekranken Hunden durch. Davon entsprachen 4 Fälle einer Kernvolumen-Verdopplungsreihe auf der Basis $65 \mu^3$, 2 einer solchen auf der Basis $190 \mu^3$; für den letzten Fall wurde die Regelklasse bei $576 \mu^3$ gefunden.

Ein Teil der eigenen Untersuchungen befaßt sich mit der Karyometrie an Präparaten von Hunden, die mit einem Cytostaticum aus der N-Lost-Gruppe, dem Endoxan^o, behandelt worden waren. Dieses Medikament, das N,N-Bis-(2-chloräthyl)-N', O-propylenphosphorsäureester-diamid, bringt manche Neubildungen, besonders solche, die vom lymphoreticulären System ausgehen, vorübergehend zum Schwinden.

Der Angriffspunkt des Endoxan^o ist offenbar bei den Chromosomen des Ruhekerns zu suchen (MICHAELIS & RIEGER, 1961). Nach PALME, LISS & WIEBEL (1964) kommt es zu einer Verzögerung der prämi-

totischen Ruhephase des Zellkerns. PALME, LISS, OEFF & PLATIS stellten 1963 als Endoxan^O-Wirkung einen verringerten Einbau von Thymidin in die DNS des Zellkernes fest, der eine Hemmung der DNS-Neubildungsrate zur Folge hat. THEMANN (1964) sah elektronenmikroskopisch neben einer Verkürzung der DNS-Moleküle mit abwegigen Querverbindungen auch Veränderungen an den Mitochondrien.

Vielfach bestätigt ist die Abnahme der Mitoserate nach Endoxan^O. Sie wurde in der Gewebekultur von HABERMEHL (1962), an Rattentumoren von BIENENGRÄBER, PUTZKE & TESSMANN (1965) und am Dünndarmepithel der Maus von PALME, LISS & WIEBEL (1964) beschrieben. GRUNDMANN (1952) führt die Abnahme der Mitoserate nach Stickstoff-Lost-Therapie beim Menschen vorwiegend auf die Verhinderung des Eintritts der Mitose, z.T. auch auf Mitosestillstand zurück.

Die lichtmikroskopisch wahrnehmbaren Veränderungen an den Zellen nach Endoxan^O-Behandlung sind vielfältig. Die Kernkontur wird unregelmäßig. Vakuolen treten zahlreich auf, sowohl in den Zellkernen als auch im Cytoplasma, in dem es überdies zur Bildung kompakter Schollen kommen kann (du MESNIL, de ROCHEMONT, RINGLEB und SCHNEIDER, 1959; CASTOLDI & MALACARNE, 1964; FORNI, KOSS & GELLER, 1964; MAHOOD & JOHNSTON, 1963 u.a.). Nach YAMAGUCHI, IWAKI & NAGAI (1960) und SCHMIDT & THEMANN (1960) kann die Vakuolisierung zur Entstehung von Riesenzellen führen. Von besonderem Interesse ist in unserem Zusammenhang die Kerngröße. Aus den meisten Veröffentlichungen wird eine Zunahme des Kernvolumens nach der Einwirkung von N-Lost-Präparaten ersichtlich (GRUNDMANN, 1952; RINGLEB, SCHERER & SCHNABEL, 1960; BAUER, HEILMEYER, LANG & SCHWIEGK, 1960). Sie wird allgemein auf eine vermehrte Wasseraufnahme durch den Zellkern zurückgeführt. Nach GRUNDMANN (1952) ist dieses pathologische Kernödem reversibel.

Für die Beurteilung von Lymphknotenpräparaten nach Endoxan^O-Behandlung ist die Feststellung von MASSHOFF & VOGEL (1967) von Bedeutung, daß Cytostatica das morphologische Bild bis zur Unkenntlichkeit verändern können. Dabei kommt es mit der Unterdrückung der ursprünglichen pathologischen Zellneubildung zur Wucherung reticulärer Zellen.

In einem unserer Fälle wurde neben Endoxan^o auch Sanamycin^o angewendet. Es ist ein kristallisierter, antibiotisch und cytostatisch wirkender Naturstoff, der aus Kulturen von *Streptomyces chrysomallus* gewonnen wird. Schließlich kamen auch Decortin^o und Scherisolon^o zur Anwendung, Prednison- bzw. Prednisolon-Präparate, die u.a. eine Involution des lymphatischen Systems bewirken (HAUSCHILD 1960).

Sanamycin^o: Bayer A.G., Leverkusen

Decortin^o: Merck, Darmstadt

Scherisolon^o: Schering A.G., Berlin

E i g e n e U n t e r s u c h u n g e n

Material und Methode

Der Arbeit liegen Kernmessungen an Lymphknotenpunktaten von 22 Hunden, die Lymphknotenvergrößerungen infolge von Lymphadenose aufwiesen, zugrunde. Von 20 dieser Tiere wurde je ein Präparat, das vom Tag der Aufnahme des Patienten in die Klinik stammte, untersucht. Von zwei Fällen wurden 6 bzw. 8 Lymphknotenpunktate untersucht, die im Verlauf der 94- bzw. 102-tägigen Behandlungszeit gewonnen waren. Außerdem wurden die Kerne von Abklatschpräparaten der Lymphknotenschnittfläche dreier klinisch gesunder Hunde ausgemessen.

Von jedem Präparat (Färbung nach PAPPENHEIM) wurden je nach Zelldichte 10 - 20 Photoaufnahmen gemacht (Obj. 40; Ok. Kpl 8; Aufsetzkamera ZEISS; Adox-Film KB 14; Grünfilter).

Die Größenbestimmung der Zellkerne erfolgte an dem vergrößerten Photoabzug mit dem Lineal in Teilstrichen (1 Teilstrich = 1 mm). Auf die Schätzung von Bruchteilen eines Millimeters wurde verzichtet; Meßgenauigkeit ist demnach 1 Teilstrich. Für den Vergleich von Kerngrößen ist im Hinblick auf das JACOBSsche Gesetz das Kernvolumen von Bedeutung. Es wurde über die Formel des Rotationsellipsoides aus den Kerndurchmessern (großer Durchmesser = Drehachse) berechnet:

$$V = \frac{4}{3} \pi r^2 R = \frac{4}{3} \pi \left(\frac{d}{2} \right)^2 \frac{D}{2} = \frac{\pi}{6} d^2 D = 0,5236 d^2 D$$

Um das Kernvolumen in μ^3 angeben zu können, muß eine Umrechnung mit dem Vergrößerungsfaktor erfolgen. Auf jeden Film wurde auch ein Objektmikrometer aufgenommen und auf der Vergrößerung der Abstand der Teilstriche des Mikrometers gemittelt. 10 μ Objmkr. entsprachen ungefähr 12 mm auf der Vergrößerung;

$$1 \text{ mm} = f \mu; \text{ z.B. } f = \frac{10}{12} = 0,83 \mu.$$

Für die Volumenangabe in μ^3 ergibt sich danach:

$$V = 0,5236 f^3 d^2 D = F d^2 D$$

Der Faktor F wurde für jede Fotoserie bestimmt. Die Variablen $d^2 D$ wurden für den Meßbereich tabellarisch zusammengestellt (Tab. 1). Auf den Tafeln 1 - 35 ist die Zahl der gemessenen

Zellkerne und der Vergrößerungsfaktor F jeweils angegeben.

Die Bestimmung des Kernvolumens auf Grund abgestufter Durchmesser bringt es mit sich, daß rechnerisch nur ganz bestimmte Volumina entstehen können (s. Tab. 1). Eine Anordnung dieser Volumina nach der Größe ergibt eine diskontinuierliche Folge. Das macht es problematisch, Klassen für die Darstellung einer Häufigkeitsverteilung der Volumina abzugrenzen.

Die Differenz zwischen großem und kleinem Durchmesser des Zellkerns, die "Ovalität", kann ein typisches Kernmerkmal sein. Kugelige Zellkerne erscheinen im Abklatschpräparat vorwiegend kreisrund (vgl. das auf die Pfanne "abgeklatschte" kugelige Eidotter); ovoide Zellkerne, z.B. die Kerne von Endothelzellen, heben sich auch im Abklatschpräparat durch ihre Ovalität heraus. Zweifellos kann aber durch präparatives Zerren und Quetschen des Zellkernes auch eine "untypische" Ovalität entstehen. Typische und untypische Ovalität unterscheiden sich durch ihre Häufigkeit. Es ist zweckmäßig, für die Ermittlung typischer Kernvolumina nur die Zellkerne mit typischer, d.h. häufig vorkommender Ovalität zu verwenden.

Grundlage für die Auswertung bildete die Registrierung der ausgemessenen Zellkerne in dem von NIEPAGE (1967) angegebenen Schema, das zugleich die an den Durchmessern festgestellten Kerngrößen, deren Häufigkeit und die Ovalitäten abzulesen gestattet.

D	18				1458	1900
	17			1058	1377	1700
	16		784	1024	1296	1600
	15	540	735	960	1215	1500
	14	350	504	686	896	1134
	13	325	468	637	832	1053
	12	300	432	588	768	972
	11	275	396	539	704	891
	10	250	360	490	640	810
	9	225	324	441	576	729
	8	200	288	392	512	
	7	175	252	343		
	6	150	216			
	5	125				

=====2=====6=====7=====8=====9=====10=====

d

D	24				5400
	23			4508	5175
	22		3718	4312	4950
	21	3024	3549	4116	4725
	20	2420	2880	3380	3920
	19	2299	2736	3211	3724
	18	2178	2592	3042	3528
	17	2057	2448	2873	3332
	16	1936	2304	2704	3136
	15	1815	2160	2535	2940
	14	1694	2016	2366	2744
	13	1573	1872	2197	
	12	1452	1728		
	11	1331			

=====11=====12=====13=====14=====15=====

d

D	29				11600
	28			10108	11200
	27		8784	9747	10800
	26		7514	8424	9386
	25	6400	7225	8100	9025
	24	6144	6936	7776	8664
	23	5888	6642	7452	8303
	22	5632	6358	7128	7942
	21	5376	6069	6804	7581
	20	5120	5780	6480	7220
	19	4864	5491	6156	6859
	18	4608	5202	5832	
	17	4352	4913		
	16	4096			

=====16=====17=====18=====19=====20=====

d

Tab. 1 : d^2D im Meßbereich

In ein Netz, das aus der Abszissentheilung nach steigendem kleinen Durchmesser und der Ordinatenheilung nach steigendem großen Durchmesser entsteht, wird die Häufigkeit jeder Kombi-

nation von d und D in das entsprechende Feld eingetragen. Jede Diagonalbahn enthält dann Zellkerne mit ähnlicher Ovalität:

In der untersten Reihe Kerne mit $D = d$, in der folgenden $D = d + 1$, dann $D = d + 2$ usw. (s. Tafeln 1 - 35).

Die Häufigkeitsverteilung der Kerne nach dem kleinen Durchmesser ergibt sich aus der Summe über den einzelnen Abszissenwerten; die Häufigkeitsverteilung nach der Ovalität durch Summierung der Werte jeder Diagonalbahn.

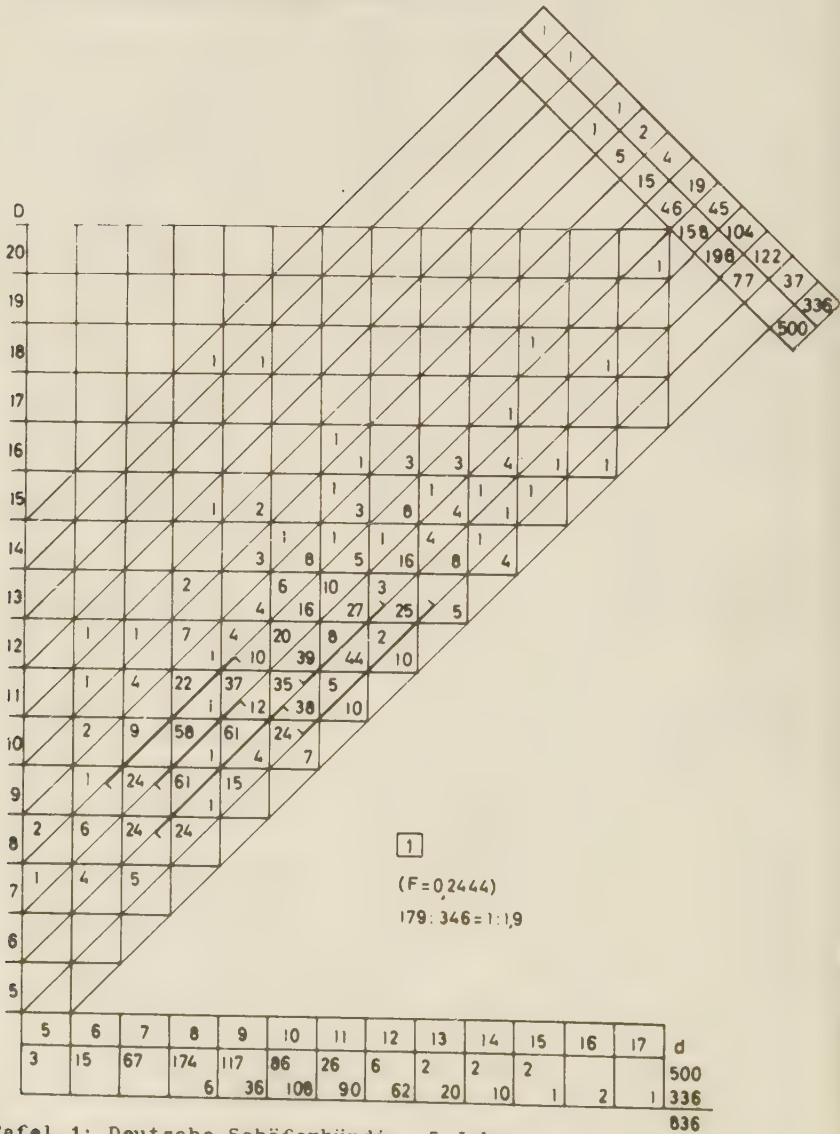
Als typischer Wert (d,D) einer Kernsorte ist grundsätzlich der am häufigsten vorkommende anzusehen (Dichtemittel). Hebt er sich deutlich heraus, so kann er einfach abgelesen werden. Erstreckt sich die Häufung über mehrere Felder, so kann der typische Wert aus einem Bereich, der mehrere Felder einer oder mehrerer Diagonalbahnen umfaßt, unter Berücksichtigung der Häufigkeitswerte in den Feldern ermittelt werden. Dabei ist für eine symmetrische Abgrenzung Sorge zu tragen. Die für die Berechnung benutzten Felder sind in den Tafeln jeweils eingeklammert.

Die Abgrenzung kann schwierig werden, wenn die Verteilung der Häufigkeiten erkennen läßt, daß zwei oder mehr Häufungsstellen aufeinander folgen. Es kommt dabei zur Überlagerung von Nebenhäufigkeiten zwischen den beiden Maxima, wodurch ein Häufigkeitswert resultieren kann, der größer ist als die beiderseitigen Gipfelwerte. Aus dem Anstieg der Häufigkeiten von den Extremen her zu den Maxima hin kann man meist ableiten, ob die mittlere größte Häufigkeit ein echtes Maximum darstellt oder als Überlagerung aufzufassen ist.

Häufig sind in Lymphknotentupfpräparaten nach der Anfärbbarkeit des Chromatins "helle" und "dunkle" Zellkerne zu unterscheiden. In diesen Fällen wurden beide Kerntypen im gleichen Netz getrennt registriert, indem die dunklen Kerne jeweils oben links, die hellen unten rechts im Feld eingetragen wurden. Die Tafeln enthalten außerdem kurze Hinweise auf klinische Daten der einzelnen Patienten. Die typischen Kernvolumina und ihr Größenverhältnis sind unter dem Vergrößerungsfaktor F angegeben.

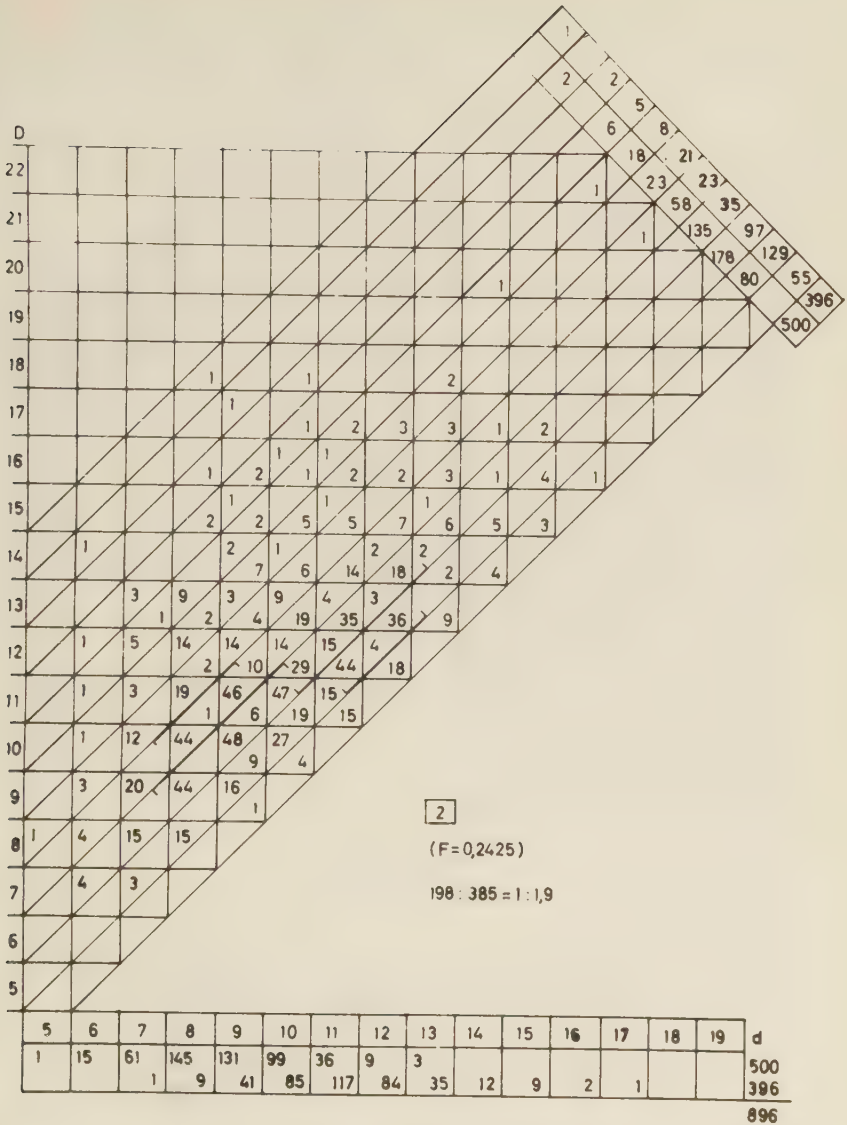
Ergebnisse und Besprechung der Befunde

Tafel 1 - 20 geben die Meßergebnisse der nur einmal untersuchten lymphadenotischen Fälle wieder.

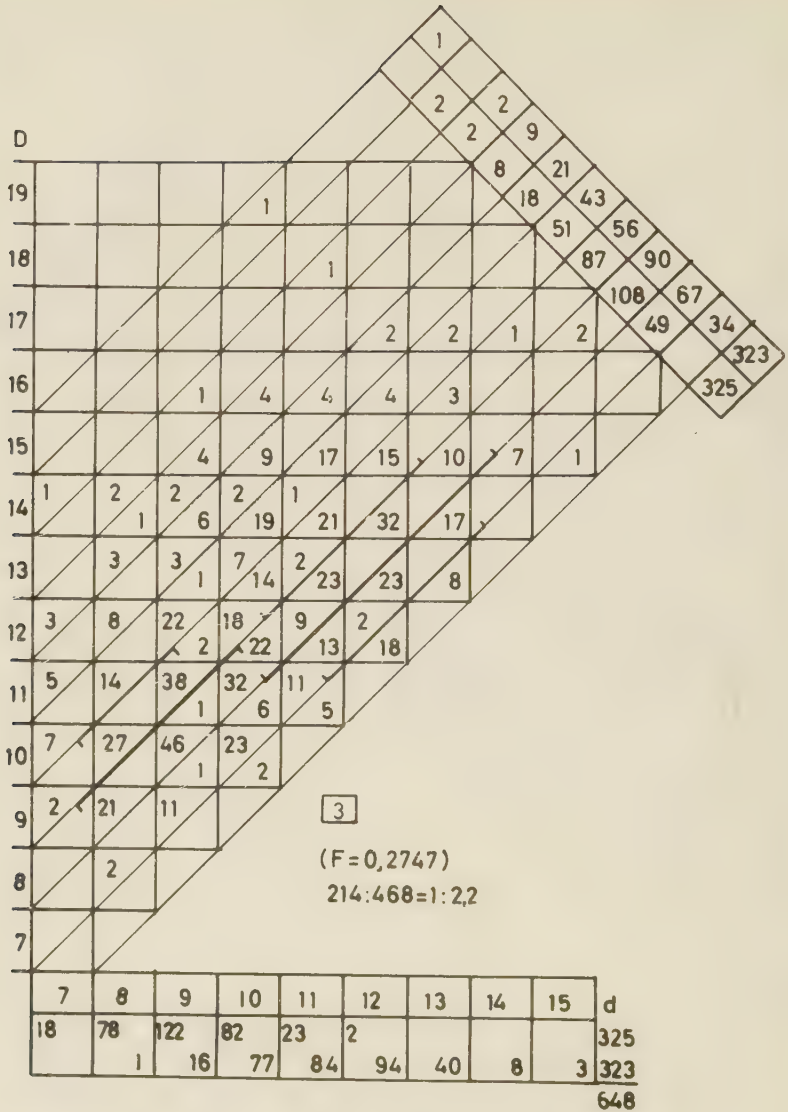


Tafel 1: Deutsche Schäferhündin, 5 Jahre

Ca. 5 Wochen nach Pyometraoperation Wiedervorstellung mit hochgradiger Anämie, Splenomegalie und geringgradig vergrößerten Körperlymphknoten.

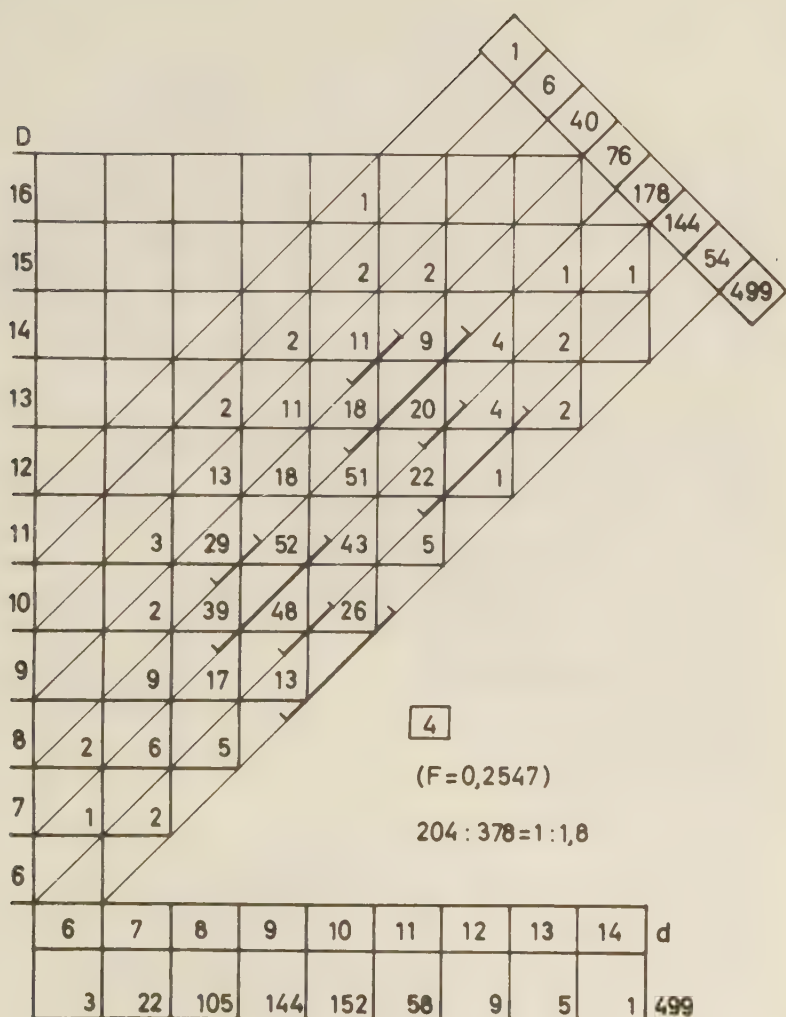


Tafel 2: Skye-Terrier, Hündin, 11 Jahre
Apathie, Vomitus, palpable Lymphknoten bis etwa haselnußgroß.



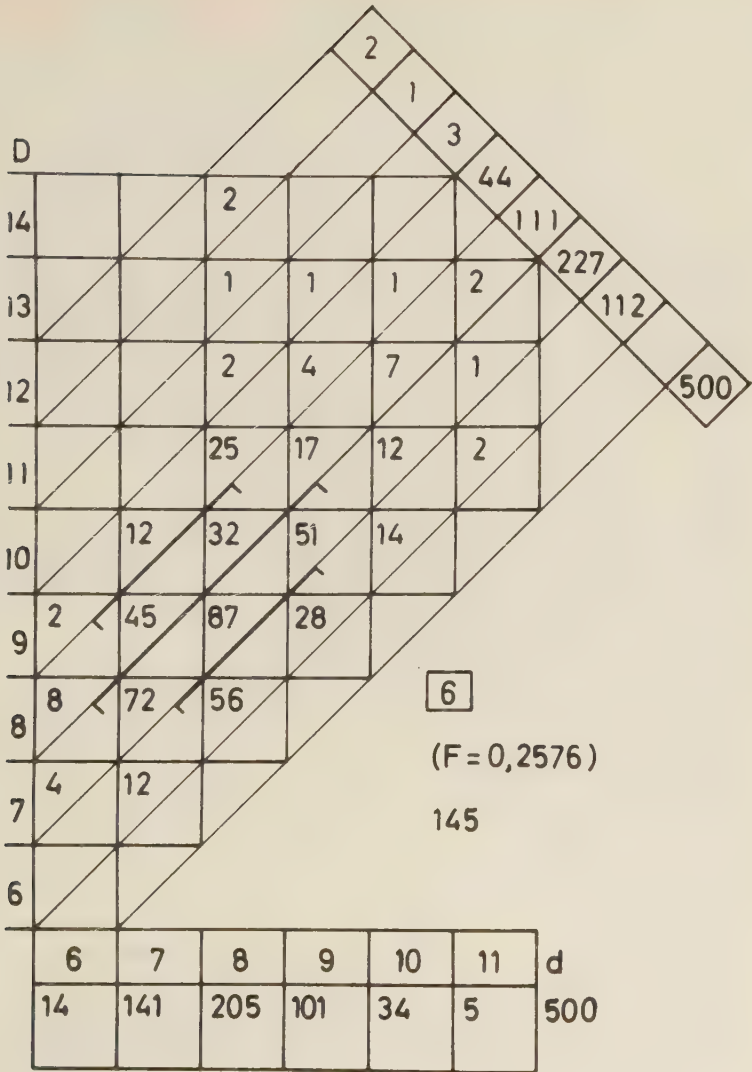
Tafel 3: Schotten-Terrier, Rüde, 9 Jahre

Seit ca. 3 Wochen langsam zunehmende Apathie. Vergrößerung aller palpablen Körperlymphknoten sowie der Leber und Milz. Sehr schlechtes Allgemeinbefinden. Gelegentlich Epistaxis.



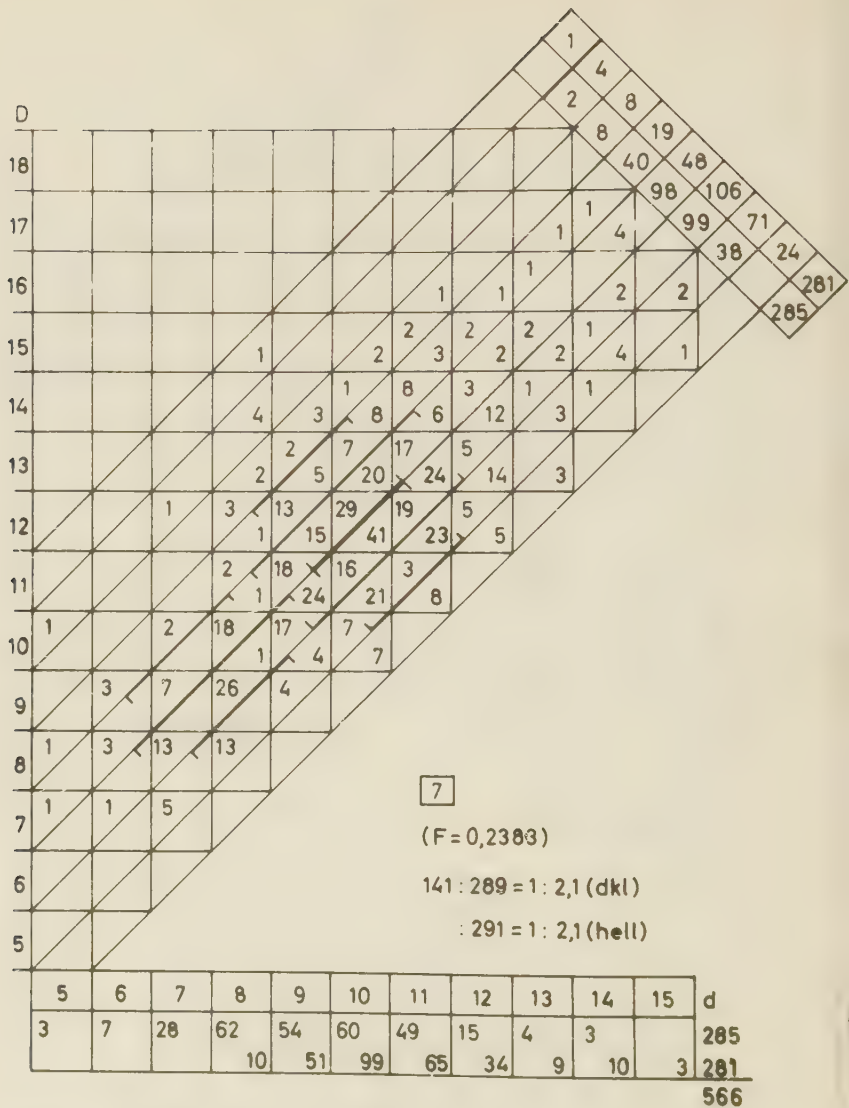
Tafel 4: Boxer, Hündin, 8 Jahre

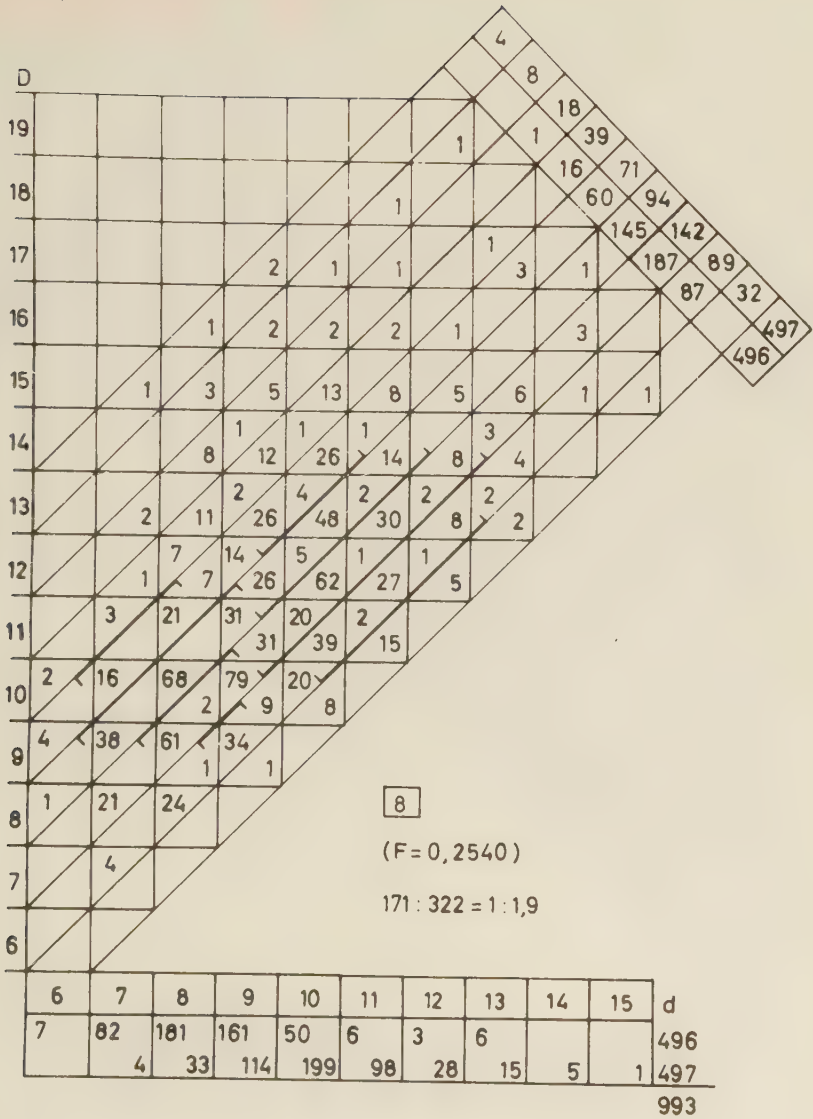
Polydipsie, Kotabsatzbeschwerden, unterschiedlich vergrößerte Körperlymphknoten, Hepatosplenomegalie.



Tafel 6: Pudel, Rüde, 7 Jahre

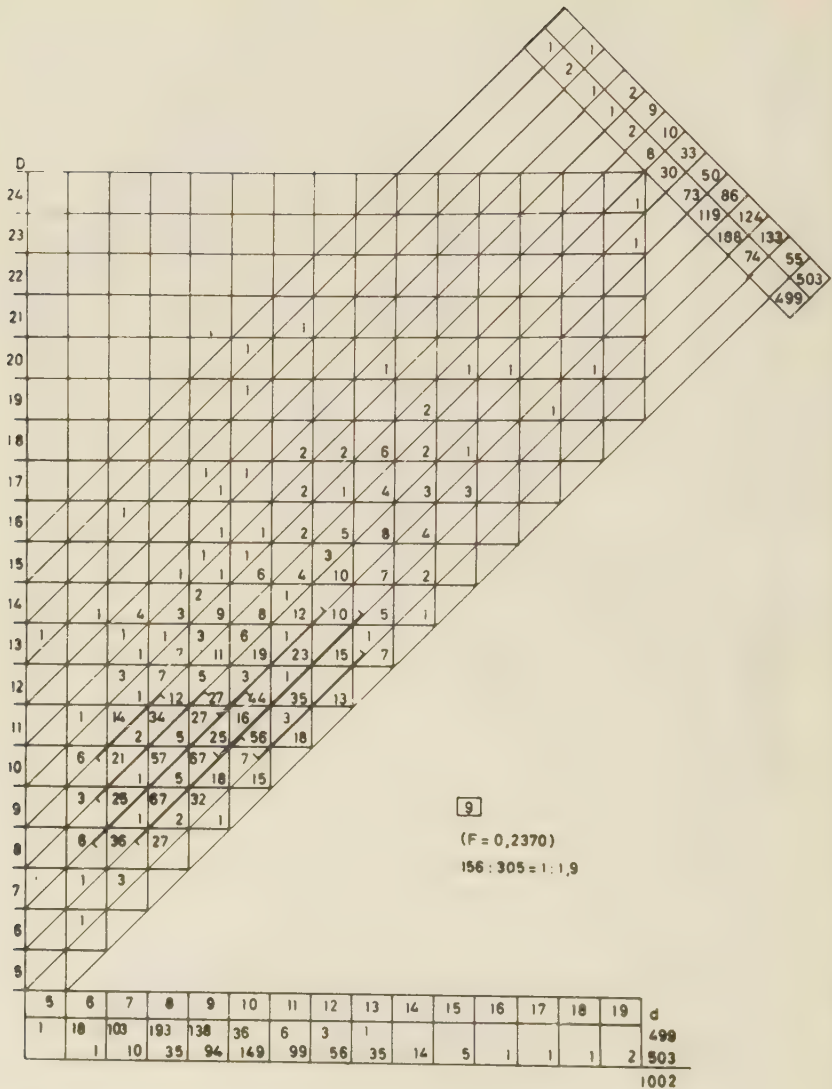
Innerhalb von zwei Monaten deutliche Vergrößerung der anfangs ca. haselnußgroßen retropharyngealen, präscapularen und poplitealen Lymphknoten.





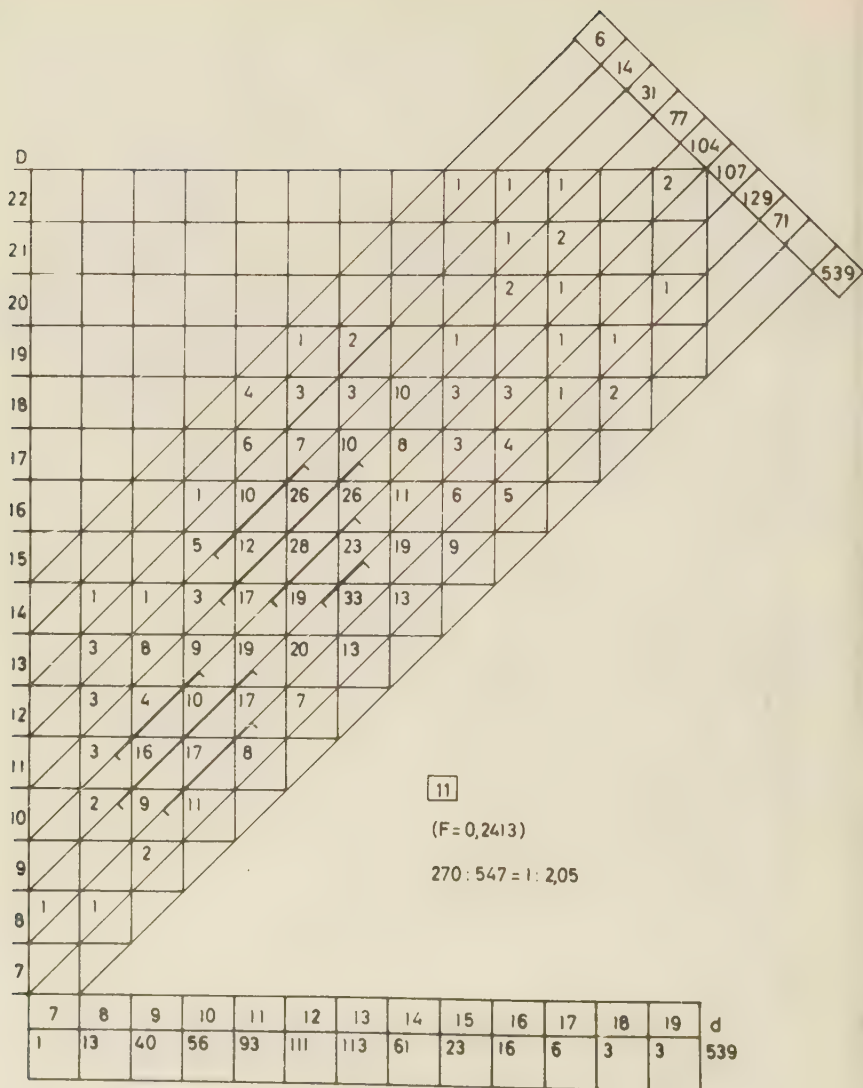
Tafel 8: Boxer, Rüde, 6 Jahre

Seit 14 Tagen zunehmende Schwellung der palpablen Körperlymphknoten bei ungestörtem Allgemeinbefinden. Bei Einlieferung hochgradige Splenomegalie und Vergrößerung aller Körperlymphknoten.



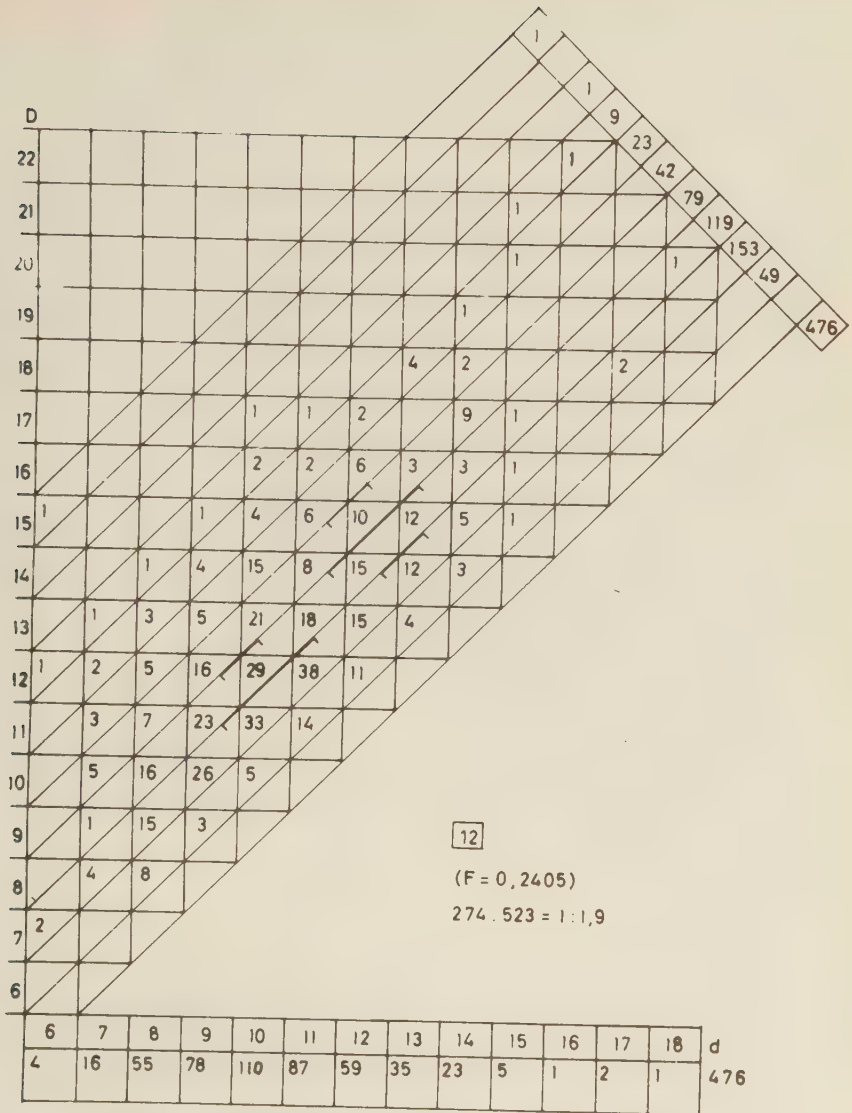
Tafel 9: Kerryblue, Hündin, 9 Jahre

Einlieferung nach plötzlichem starkem Erbrechen. Allgemeinbefinden nicht wesentlich gestört. Haselnußgroße Lnn.mandibulares.



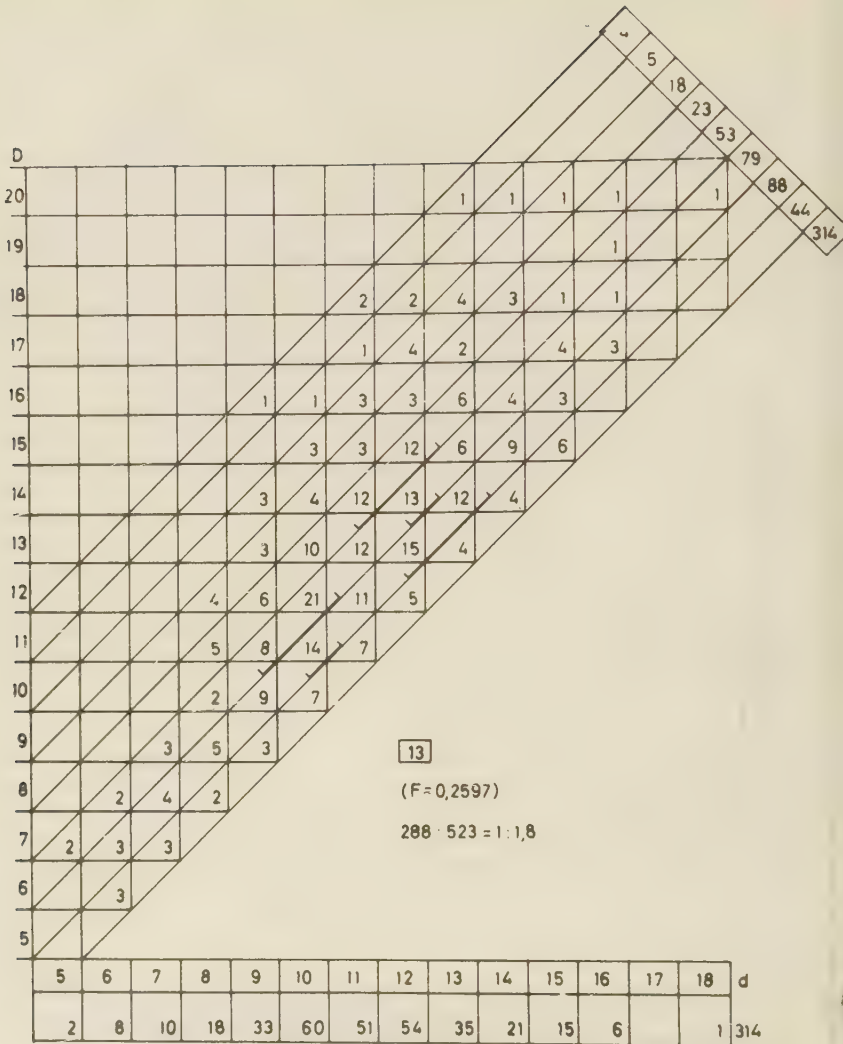
Tafel 11: Deutsche Schäferhündin, 6 Jahre

Seit 20 Tagen Beschwerden beim Aufstehen, trippelnder Gang verbunden mit Schmerzhaftigkeit, hohe Körpertemperatur. Bei Aufnahme Schwellung der palpablen Körperlymphknoten und Lebervergrößerung.



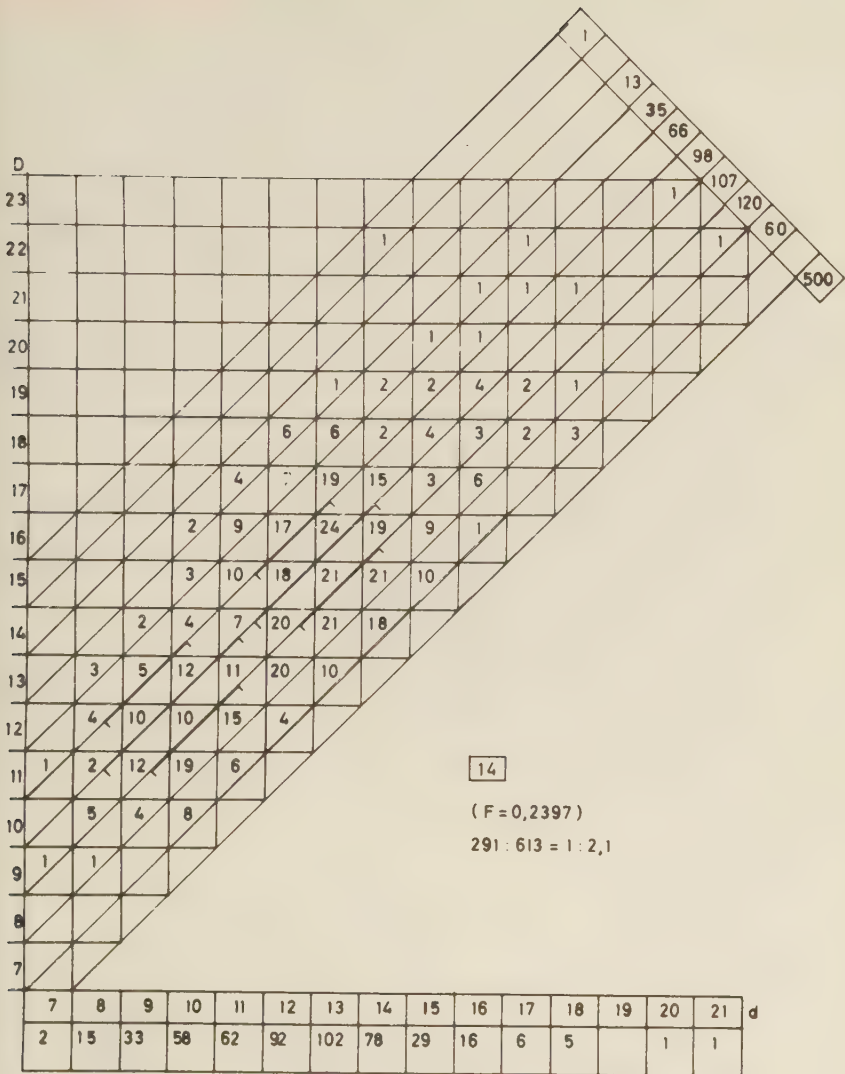
Tafel 12: Chow-Chow, Hündin, 8 Jahre

Seit einigen Wochen Schmerzäußerung bei Berühren des Halses. Seit 2 Tagen Schwellung der linken Gesichtshälfte. Bei Aufnahme Schwellung des Gesichtes, des Halses, der Vorderbrust und der Extremitäten. Lin. mandibulares und Buglymphknoten vergrößert.



Tafel 13: Münsterländer, Rüde, 10 Jahre

Seit 4 Tagen Schwellung im Halsbereich, walnuß- bis hühner-
eigroße Körperlymphknoten.



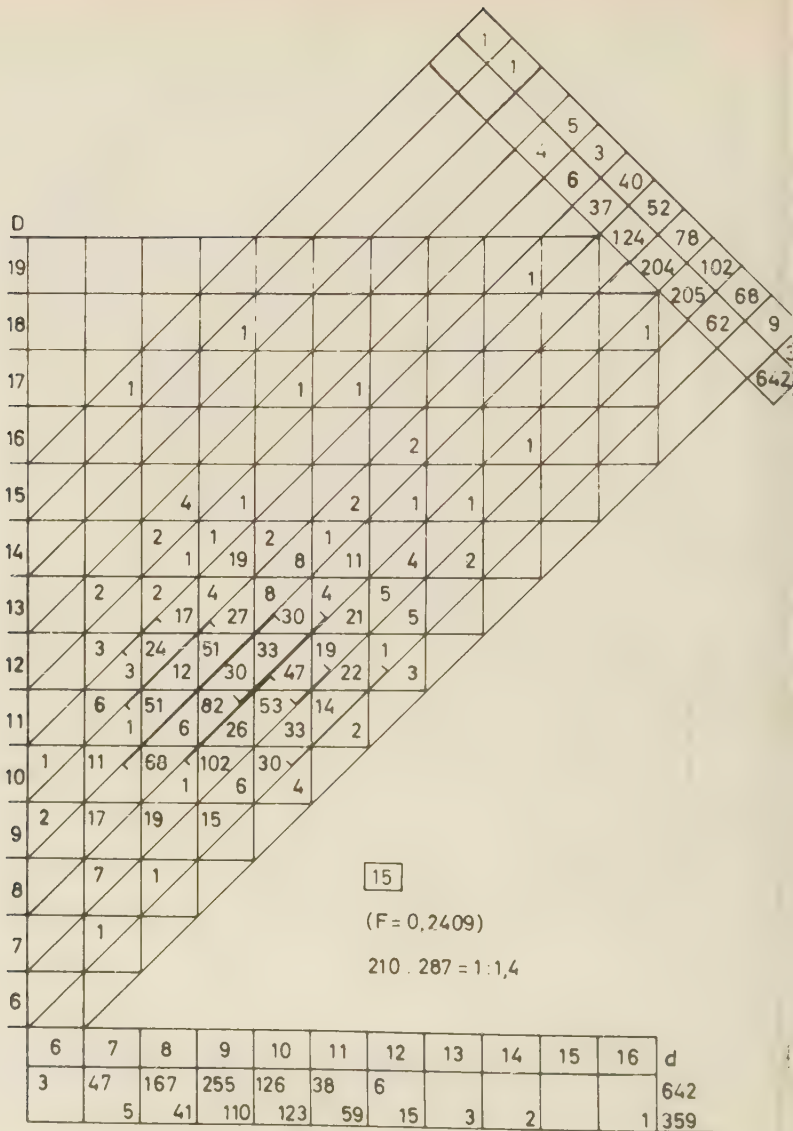
14

(F=0,2397)

291 : 613 = 1 : 2,1

Tafel 14: Irish-Terrier-Bastard, Hündin, 13 Jahre

Vergrößerung aller palpablen Lymphknoten, Hepatosplenomegalie.



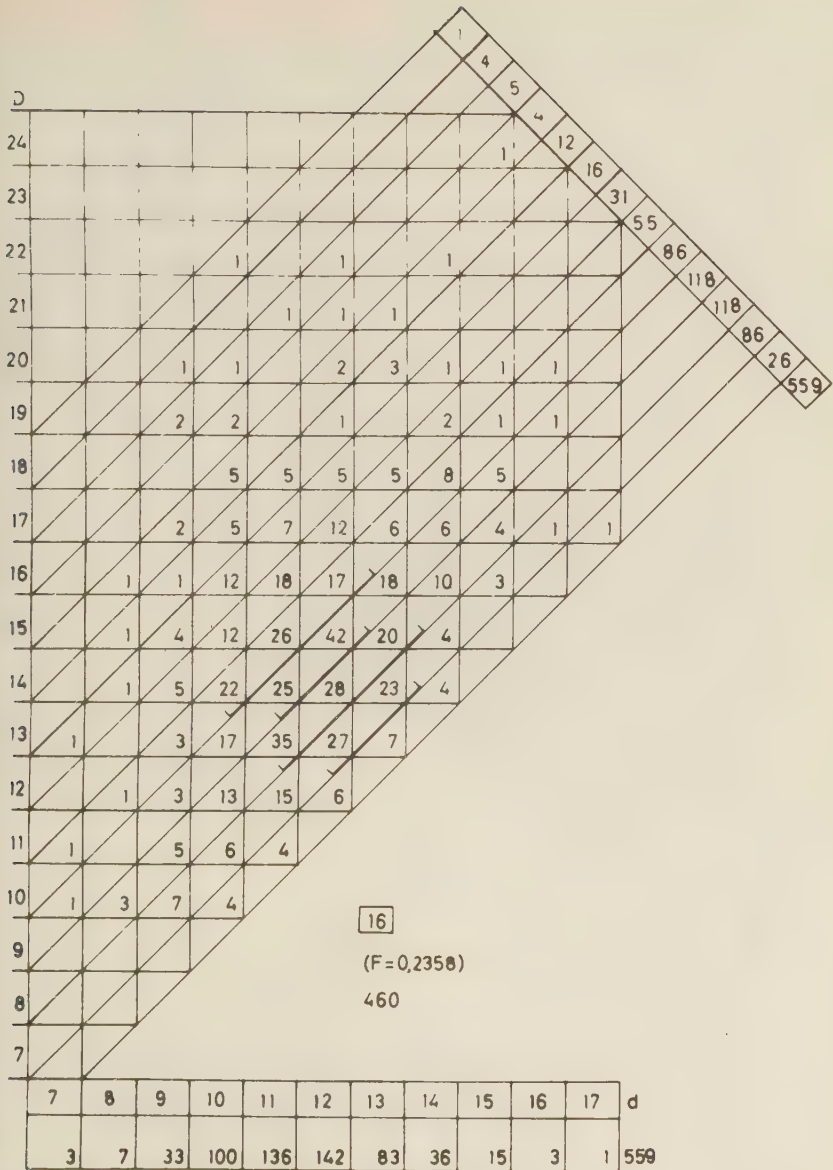
15

(F=0,2409)

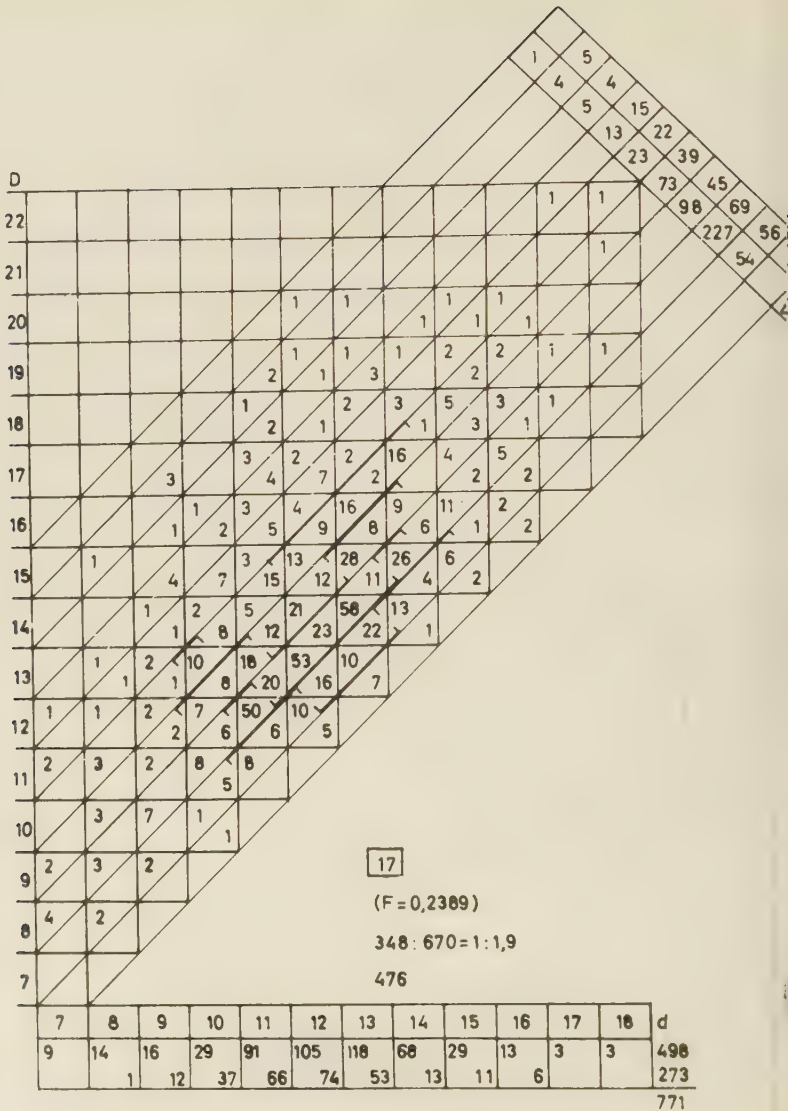
210 . 287 = 1:1,4

Tafel 15: Deutsche Dogge, Rüde, 4 Jahre

Schwellung aller palpablen Lymphknoten und Splenomegalie.

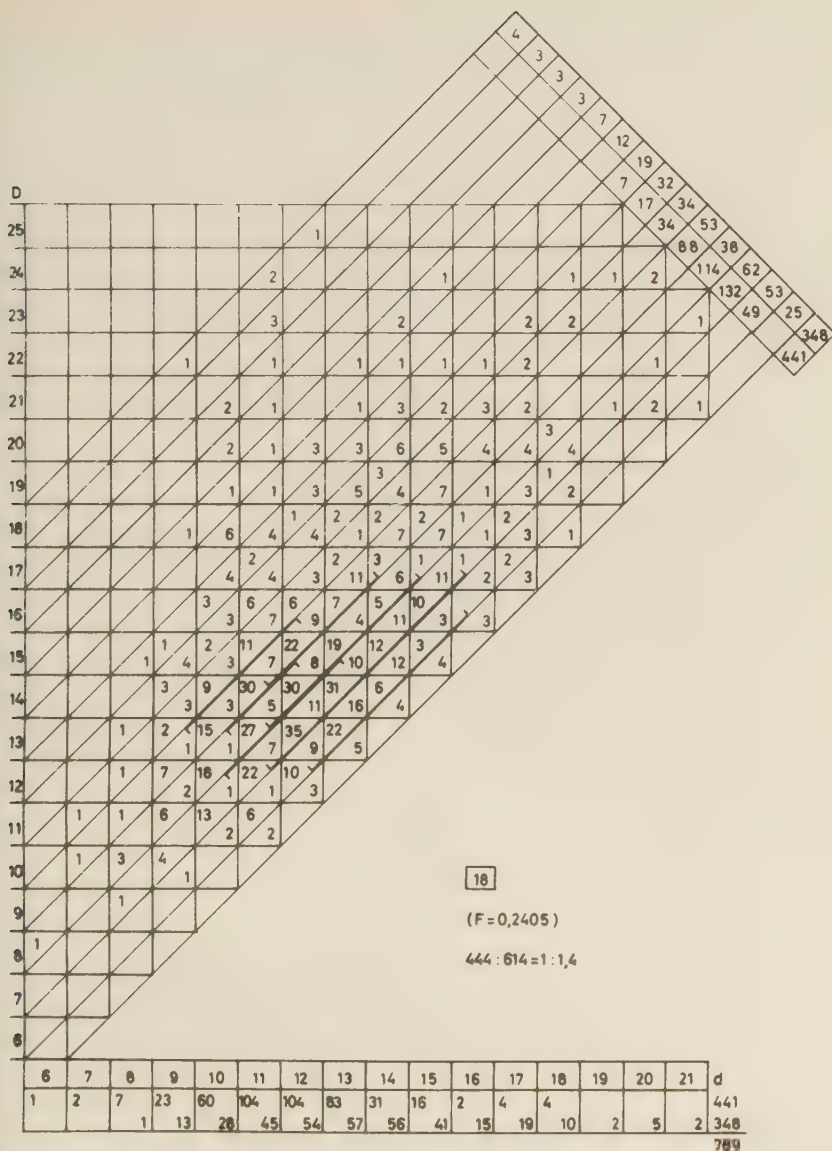


Tafel 16: Schotten-Terrier, Hündin, 11 Jahre
 Seit ca. 9 Monaten Abmagerung. Lebertumor, Splenomegalie,
 Vergrößerung aller palpablen Lymphknoten.



Tafel 17: Terrier-Bastard, Hündin, 13 Jahre

Seit einem halben Jahr starke Schwellung der Lymphknoten und Hepatosplenomegalie.



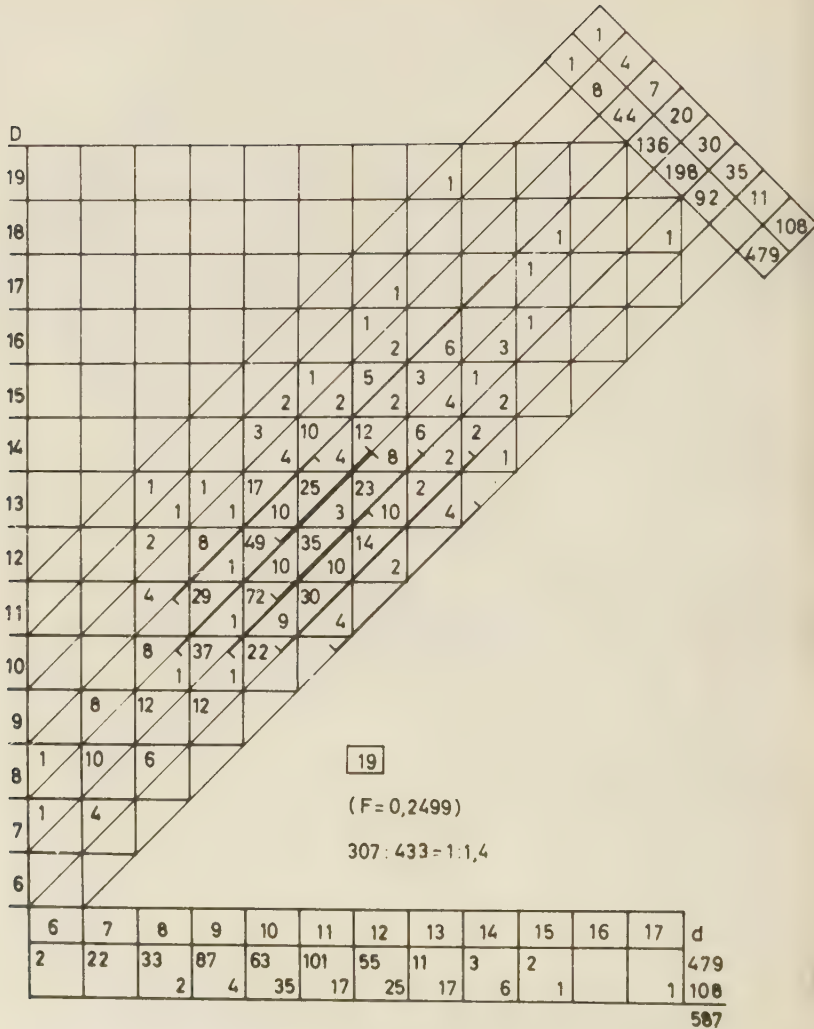
18

(F=0,2405)

444 : 614 = 1 : 1,4

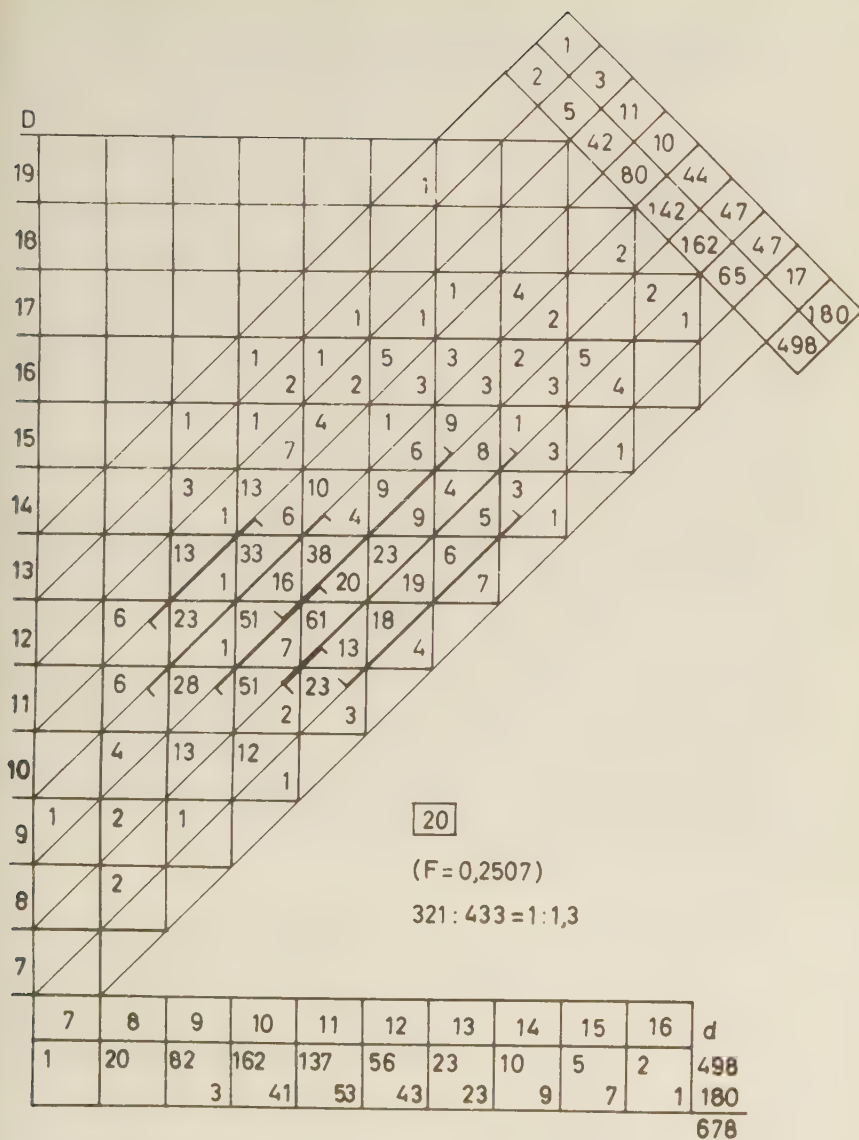
Tafel 18: Schnauzer-Bastard, Rüde, 13 Jahre

Vergrößerte Körperlymphknoten, röntgenologischer Verdacht auf vergrößerte mediastinale Lymphknoten.



Tafel 19: Deutsche Schäferhündin, 11 Jahre

Schlechtes Allgemeinbefinden, verschärft vesiculäre Atmung, Vergrößerung aller palpablen Lymphknoten, insbesondere der Buglymphknoten, Splenomegalie.



Tafel 20: Boxer, Hündin, 7 Jahre

Einseitige, nicht verschiebliche Umfangsvermehrung am Hals, Stauung kopfwärts. Rö: Verschattung der ventralen Lungenabschnitte.

In Tabelle 2 sind die Fälle nach den herausgefundenen typischen Kernvolumina geordnet. Innerhalb des einzelnen Präparates ergab sich 14 mal ein Kernvolumenverhältnis von annähernd 1 : 2 (Fälle 1-5; 7-14; 17). Zweimal konnte nur eine einzige typische Kerngröße ermittelt werden (Fälle 6; 16); in den übrigen Fällen lag das Kernverhältnis 1 : 1,4 oder 1 : 1,3 vor.

Die Gruppierung zeigt für die Fälle 1-5 die Größenordnung 179-214 bzw. 346-385 μ^3 und einmal 623 μ^3 . Die zweite Gruppe hat als kleinstes typisches Volumen 141-171 μ^3 , dann folgt die Größenordnung 270-328 μ^3 und schließlich 523-613 μ^3 .

Da innerhalb jeder dieser beiden Gruppen das Verhältnis der Kernvolumina bei 1 : 2 liegt, ist nach dem JACOBSschen Gesetz anzunehmen, daß die gefundenen Kernvolumina zu Zellen gehören, die dem Verdopplungsgesetz gehorchen und daher vom gleichen Zellstamm sind.

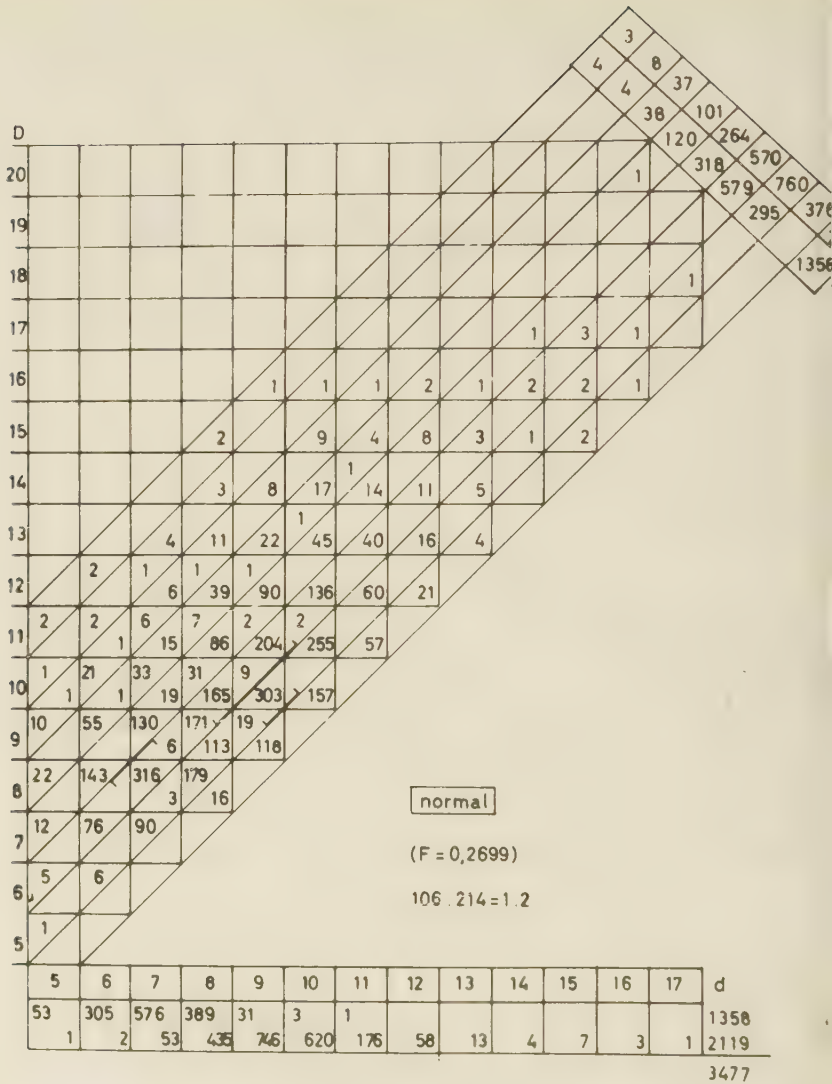
Mithin ergibt sich für die ersten 14 Fälle zwanglos eine Gruppierung, nach der die ersten fünf vorwiegend aus Zellen bestehen, die einem gemeinsamen Zellsystem zugehören, und die Fälle 6-14 gemeinsam ein anderes Zellsystem mit kleineren typischen Kernvolumina repräsentieren. Nur in einem Fall (15) wurden anhand der Kernvolumina Zellen beider Stämme nebeneinander gefunden. In der letzten Gruppe (Fall 16-20) trat ein typisches Kernvolumen auf, das keinem der beiden Zellsysteme zugeordnet werden kann. Es reicht von 433-478 μ^3 und wurde entweder allein (Fall 16), oder zusammen mit dem einen (Fall 17) oder dem anderen Kerntyp (Fälle 18-20) bestimmt.

Diesem Ergebnis werden im folgenden die Befunde gegenübergestellt, die am normalen Lymphknoten gewonnen wurden.

1	179	346		1:1,9
2	198	385		1:1,9
3	214	443		1:2,1
4	204	378		1:1,8
5		350	623	1:1,8
6	145			
7	141	290		1:2,1
8	171	322		1:1,9
9	156	305		1:1,9
10	168	328		1:2,0
11		270	547	1:2,0
12		274	523	1:1,9
13		288	523	1:1,8
14		291	613	1:2,1
15	210	287		1:1,4
16		460		
17		348	478	670
18		444	614	1:1,4
19	307	433		1:1,4
20	321	433		1:1,3
=====				

Tabelle 2 Gruppierung der Fälle 1-20 nach ihren typischen Volumina

In Tafel 21 sind die Meßergebnisse zusammengefaßt, die von Abklatschpräparaten der Schnittflächen von präscapulären Lymphknoten dreier klinisch gesunder Hunde stammen. Die Auswertung in der bisher geübten Weise ergibt für die dunkelkernigen Zellen ein eindeutiges Maximum bei $d/D = 7/8$ mit einem Wert für d^2D von 392 und für die hellen Zellkerne unter Zusammenfassung der Häufigkeiten in den Feldern 9/10, 8/10 und 9/11 einen gemittelten Wert für d^2D von 793. Das Verhältnis dieser Kernvolumina beträgt 1:2,0. Unbefriedigend sind bei dieser Abgrenzung die asymmetrischen Häufigkeiten in den Feldern 10/11 und 8/9 (255 bzw. 113).



Tafel 21: Kernmessungen an Präparaten von Lymphknoten
dreier klinisch gesunder Hunde.

Im vorliegenden Fall mindert die große Zahl von Messungen ($n = 3477$) den Einfluß des Zufalls in den weniger dicht besetzten Feldern, so daß es hier gerechtfertigt ist, auch diese in die Analyse mit einzubeziehen.

Die Abbildungen 1 und 2 geben die Häufigkeiten in den einzelnen Feldern als Säulendiagramm wieder. Dabei wurden die Abszissenwerte nach steigenden Werten für d^2D geordnet, wobei sie ohne Rücksicht auf die Differenz benachbarter Werte in jeweils gleichem Abstand aufgetragen sind. Bei den d u n k l e n Kernen (Abb. 1) ergibt sich ein erster kleiner, aber gut abgegrenzter Gipfel über $d/D = 5/8$. Der nächste ist bei $6/8$ ausgeprägt. Das Maximum der Häufigkeitsverteilung liegt bei $7/8$. Schließlich folgen noch zwei bemerkenswerte Häufigkeiten über $8/8$ und $8/9$. Bei den h e l l e n Kernen (Abb. 2) ist, von den hohen Abszissenwerten ausgehend, der erste sichere Gipfel bei $10/11$. Nach links folgt das Maximum der Verteilung über $9/10$; danach ist ein weiterer Gipfel bei $8/10$ angedeutet. Die d^2D -Werte der Gipfelstellen aus beiden Abbildungen betragen für $5/8 = 200$, für $6/8 = 288$, für $7/8 = 392$, für $9/10 = 810$ und für $10/11 = 1100$. Während die drei zuerst genannten Gipfelstellen von dunklen Zellkernen geliefert wurden, stammen die beiden letzten Größen von den hellen Zellkernen. Zellkerne mit dem Durchmesser $d = 8$ sind bei hellen und dunklen Zellkernen relativ häufig. Zusammengefaßt ergeben sie die Verteilung der Abbildung 3, also ein deutliches Maximum über $d/D = 8/9$ mit dem Wert für d^2D von 576.

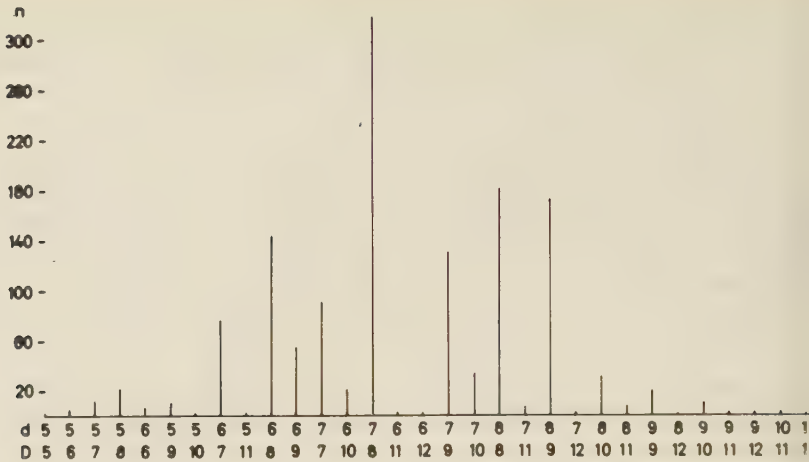


Abb. 1: Verteilung der Zellkerngrößen der "dunklen" Kerne aus Lymphknoten klinisch gesunder Hunde

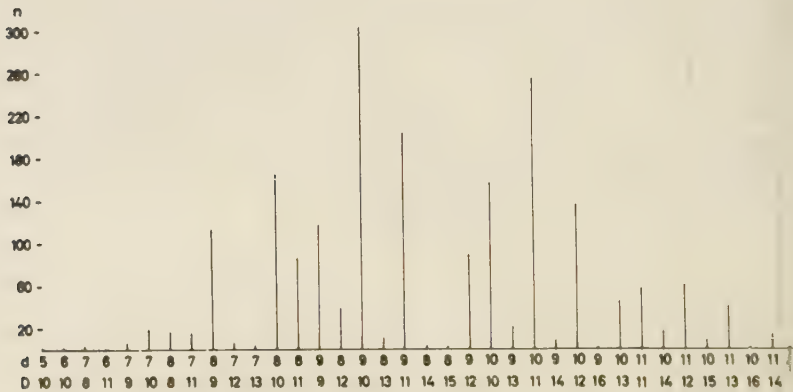


Abb. 2: Verteilung der Zellkerngrößen der "hellen" Kerne aus Lymphknoten klinisch gesunder Hunde

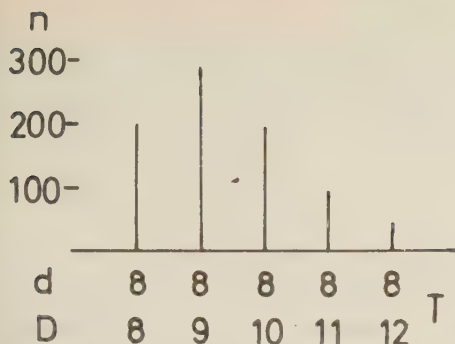


Abb. 3: Zusammenfassung der Kerngrößen mit dem kleinen Durchmesser $d = 8$ aus Abb. 1 und 2

Wird unter Verwendung des Umrechnungsfaktors von $F = 0,2699$ für die so bestimmten Gipfelstellen das Kernvolumen in μ^3 ausgedrückt, so ergibt sich:

A) d/D		μ^3			B) d/D		μ^3		
5/8	54	0,51:1,00	6/8	78	0,50:1,00	8/9	155	1,00:1,90	
7/8	106					10/11	297		
9/10	219	1,00:2,07							

Die Anordnung zeigt, daß hier zwei das JACOBSsche Gesetz weitgehend erfüllende Kernreihen vorliegen, von denen die erste (A) durch zwei dunkle Kerntypen und einen hellen, die zweite (B) von einem dunklen, einem sowohl dunkel als auch hell erscheinenden und einem hellen Kerntyp repräsentiert werden.

Dieses Ergebnis steht in guter Übereinstimmung mit Werten, die an den Lymphocyten des Blutes klinisch gesunder Hunde gefunden wurden. SCHULZE hat, wie oben erwähnt, mit dem Okularschraubemikrometer 2600 Lymphocytenkerne ausgemessen und das Volumen als Rotationsellipsoid berechnet. Die Häufigkeitsverteilung dieses Materials wurde durch NIEPAGE als Mischverteilung interpretiert und graphisch in Normalverteilungen aufgelöst. Dazu wurden sechs Verteilungen benötigt, deren Maxima über den Werten 78, 114, 150, 210, 295 und 400 μ^3 lagen. Vergleicht man diese Werte mit den hier am Lymphknoten unter Verwendung einer anderen Maß- und Auswertungstechnik gewonnenen, so ergeben sich nur geringe Abweichungen:

Blut A	-	114	210	400	= 0,5 : 1,0 : 1,9
B		78	150	295	= 0,5 : 1,0 : 2,0
Ln. A	54	106	219	-	= 0,5 : 1,0 : 2,1
B	78	155	277		= 0,5 : 1,0 : 1,9
=====					

Blutlymphocyten mit dem Kernvolumen $54 \mu^3$ (A) waren bei der graphischen Analyse der Volumenverteilung nicht zu ermitteln, vermutlich, weil sie wegen zu geringer Anzahl die Kurve im aufsteigenden Schenkel nicht deutlich beeinflußten. Die Kerngröße $400 \mu^3$ (A) blieb im vorliegenden Material unberücksichtigt, ist jedoch darin vorhanden. Sie entspricht der Kerngröße $d/D = 11/12$, die in Abb. 2 als Gipfel angedeutet ist.

In Tabelle 3 sind die typischen Kernvolumina der Lymphocyten des Blutes und der Lymphknotenzellen klinisch gesunder Hunde und die typischen Kernvolumina der Zellen aus lymphadenotisch veränderten Lymphknoten zusammengestellt.

Man erkennt daraus, daß, mit Ausnahme der Kerngruppe C, auch die bei Leukose vorkommenden Zellen ähnliche typische Kernvolumina lieferten wie sie für die Blutlymphocyten und Lymphknotenzellen gesunder Hunde gefunden wurden. Allerdings waren die Kerngrößen A1, A2 und B1 in den leukotischen Lymphknoten nicht so häufig, daß sie als typische Volumina bestimmt werden konnten. Dafür ergaben sich in diesen Präparaten auch noch die Kerngrößen B4 und A5 als typische Volumina.

	A1	B1	A2	B2	A3	B3	A4	C	B4	A5	Fall
Blut norm.			114		210		400				
Ln. norm.	54		106		219		392				
Ln.lkot.					179		346				1
					198		385				2
					214		443				3
					204		378				4
							350			623	5
Blut norm.		78		150		295					
Ln. norm.		78		155		277					
Ln.lkot.				145							6
				141		290					7
				171		322					8
				156		305					9
				168		328					10
						270			547		11
						274			523		12
						288			523		13
						291			613		14
					210	287					15
Ln.lkot.							460				16
						348	478			670	17
							444		614		18
					307		433				19
					321		433				20

Tabelle 3: Zusammenstellung der typischen Kernvolumina

Im folgenden werden die zwei Leukosefälle besprochen, von denen mehrere Lymphknotenpunktate vorliegen aus einem Zeitraum in dem die Patienten zeitweilig mit Cytostatica behandelt wurden.

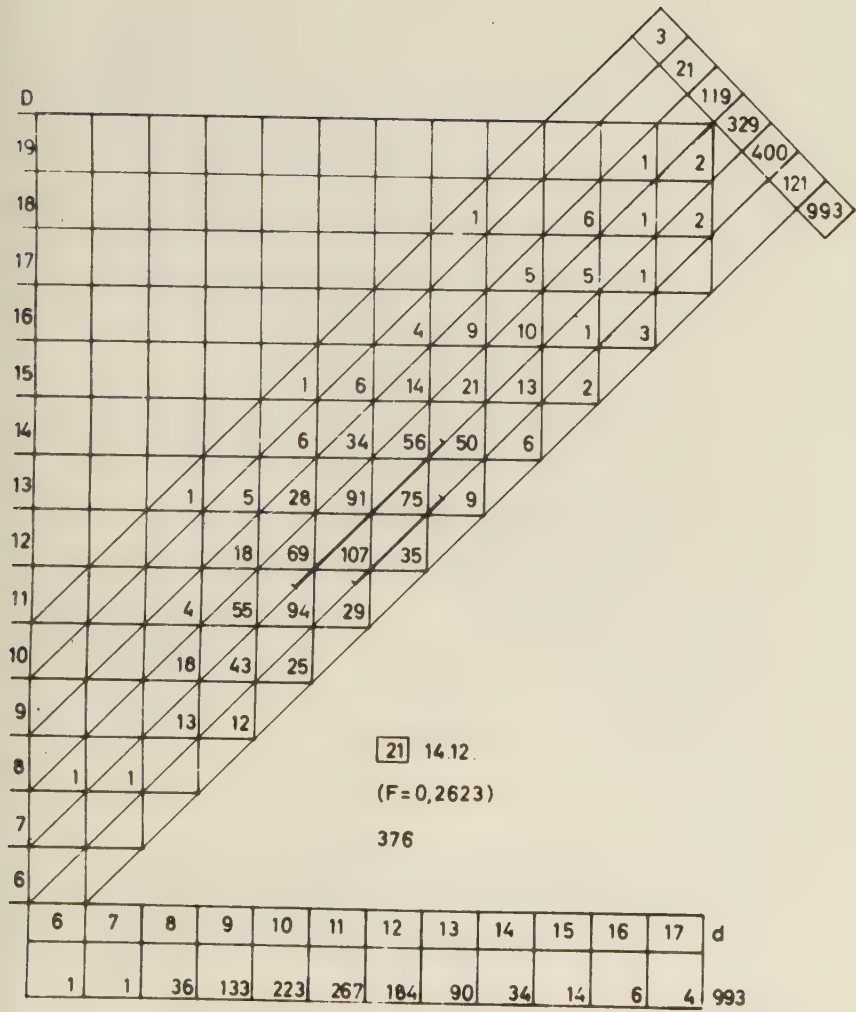
Fall 21: Terrier-Bastard, Rüde, 7 Jahre

Bei Einlieferung hochgradige Vergrößerung sämtlicher palpablen Lymphknoten. Bereits nach der 3. Endoxan^o-Injektion Verkleinerung der Lymphknoten um etwa die Hälfte. Am 11. 1. Lymphknoten wieder etwa kastaniengroß, am 18. 1. geringe Größenabnahme. Von Mitte Februar an langsam größer werdende Lymphknoten.

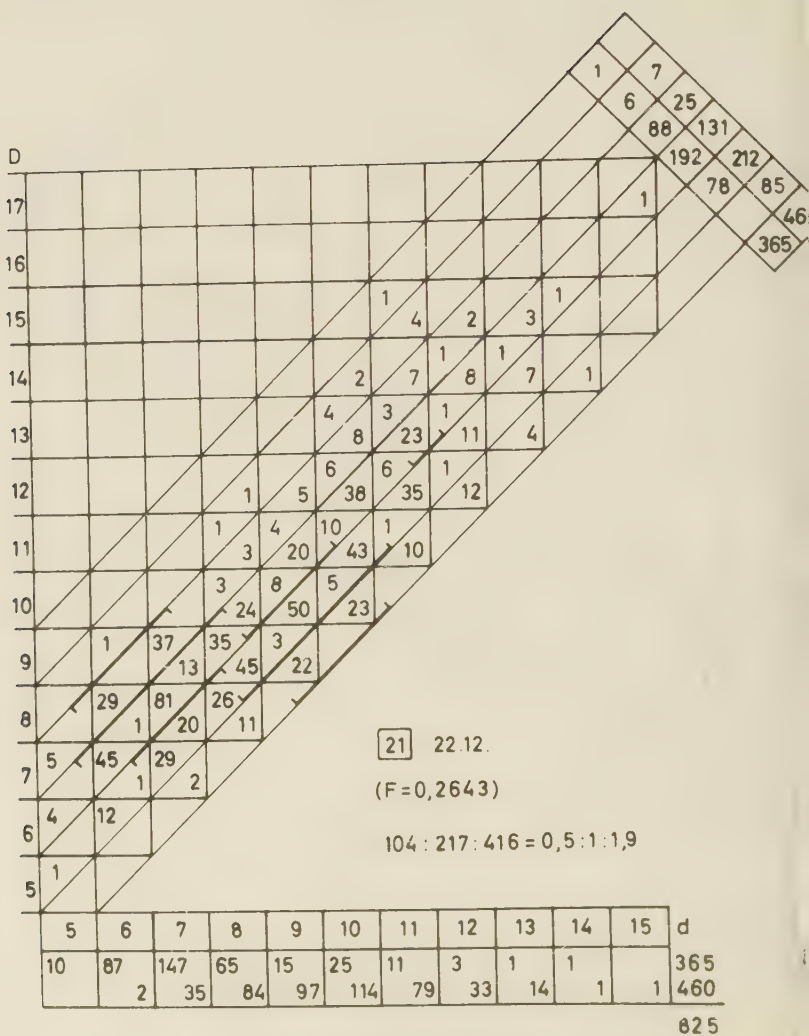
Die Tafeln 22 bis 27 geben die Meßergebnisse und die daraus bestimmten typischen Kernvolumina wieder.

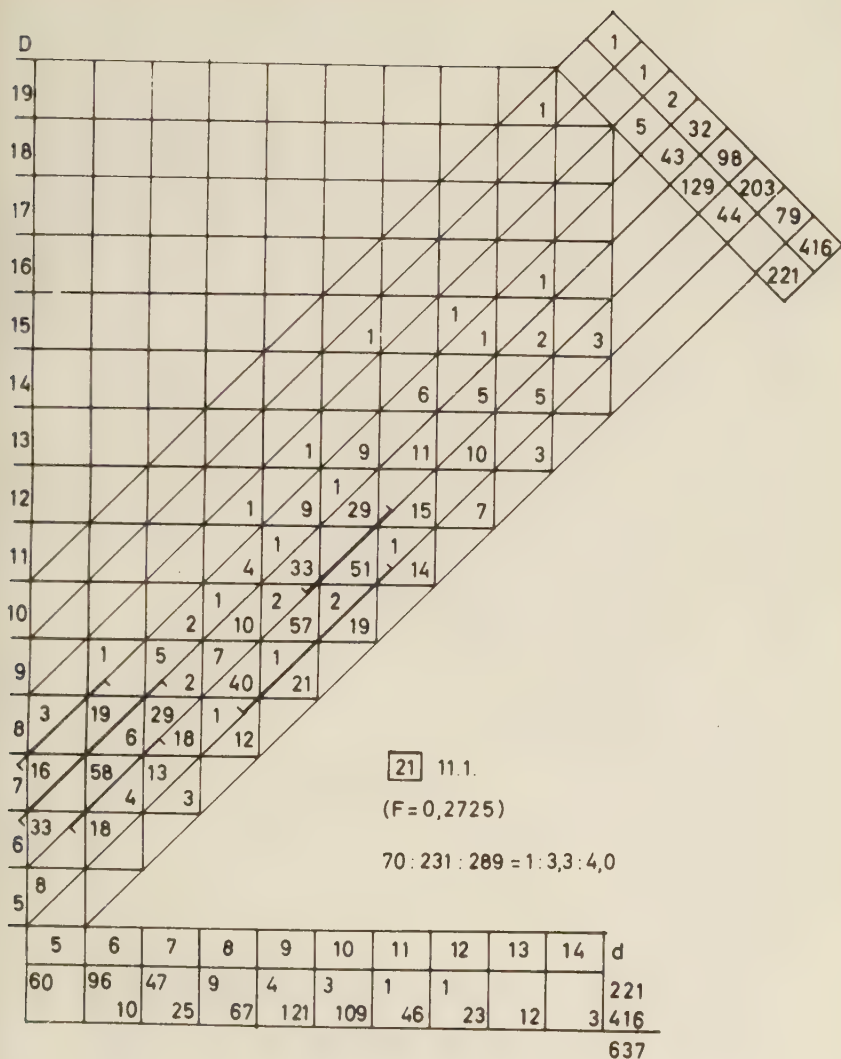
Am 14. 12. ließ die Verteilung der Kerngrößen die Bestimmung nur eines typischen kernvolumens zu, das bei $376 \mu^3$ gefunden wurde. Nach Tabelle 3 wäre es als A4 zu bezeichnen. Acht Tage später, nachdem bereits 4 mal $4,0 \text{ mg/kg}$ Endoxan^o verabreicht waren, wurden die typischen Kernvolumina 104, 217 und $416 \mu^3$ festgestellt. Sie stehen im Verhältnis $0,5 : 1,0 :$ und besagen ebenfalls, daß dieser Fall von Lymphadenose in die Gruppe A einzuordnen ist.

Die Punktate der folgenden Zeit ergaben stets eine besondere Häufigkeit von Kernvolumina, für die sich das JACOBSsche Gesetz nicht nachweisen ließ. Sie lagen in der Größenordnung von B1 und B3, niemals prägte sich jedoch im Größenbereich B2 eine besondere Häufigkeit aus. Deutlich war jedoch die größere Seltenheit großer Zellkerne, jedenfalls vorübergehend. Gegen Ende der Krankheitsgeschichte waren auch größere Kerne wieder häufiger. Dies Verhalten läßt sich in Abbildung 4 gut erkennen, in der die Häufigkeitsverteilungen der Kerne, bezogen auf den kleinen Durchmesser d, nach dem Datum zusammengestellt sind.

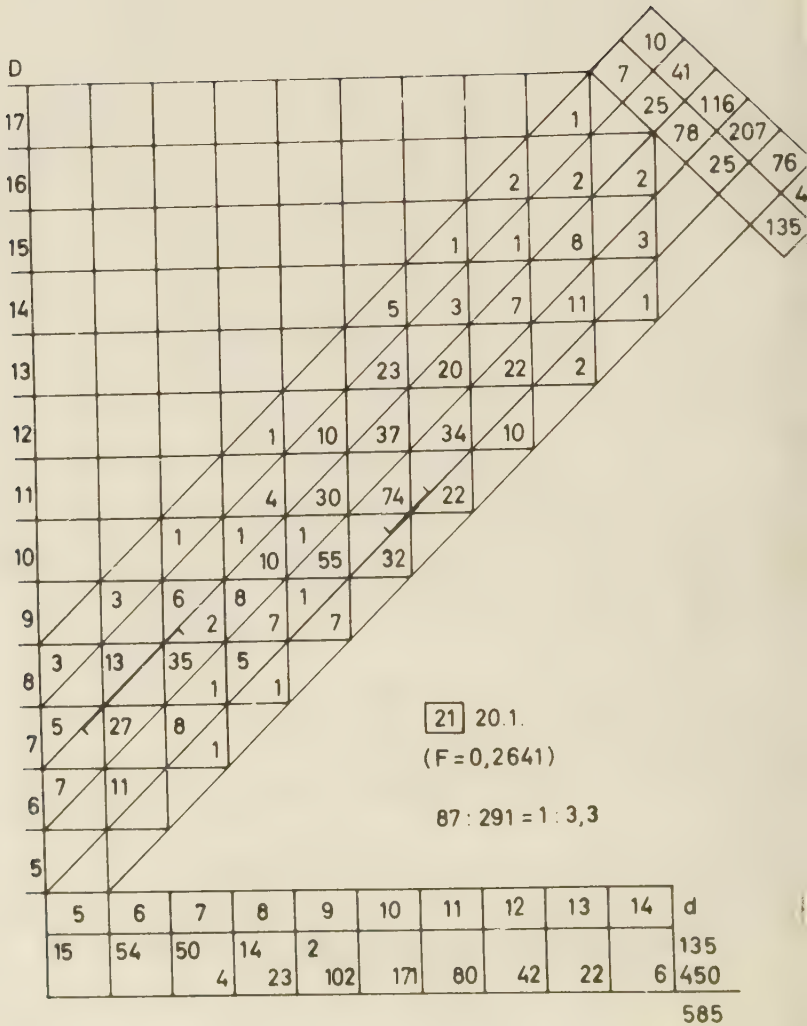


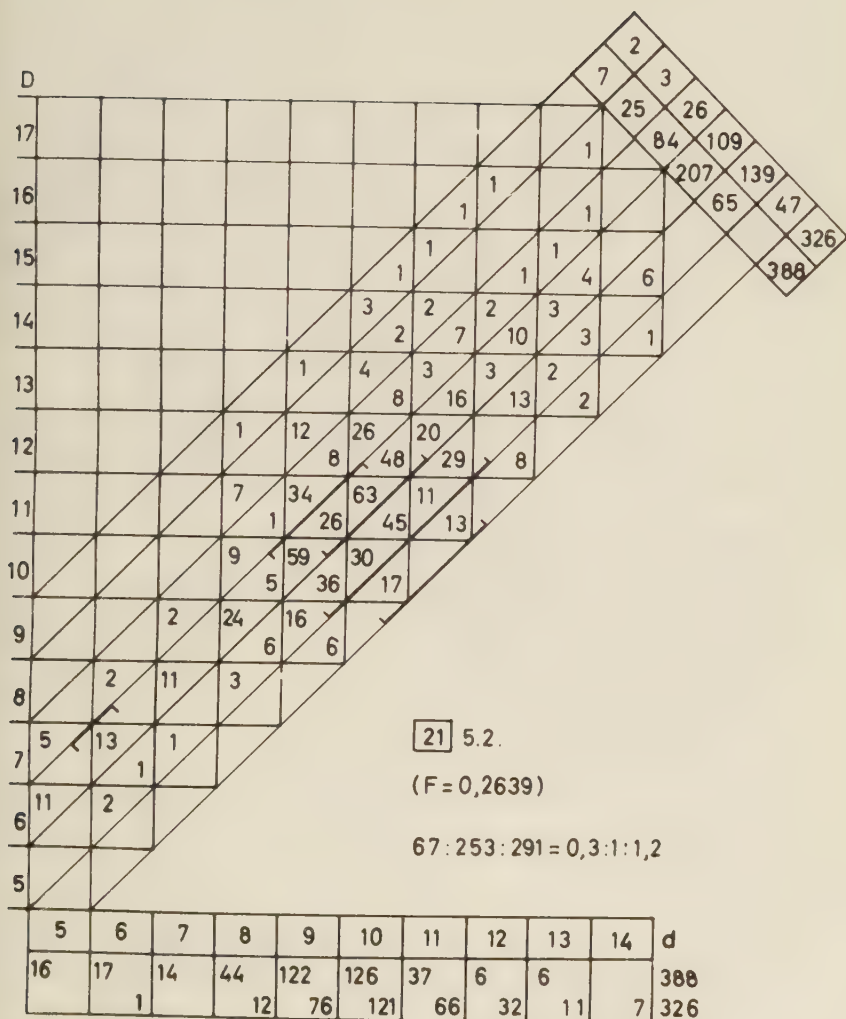
Tafel 22

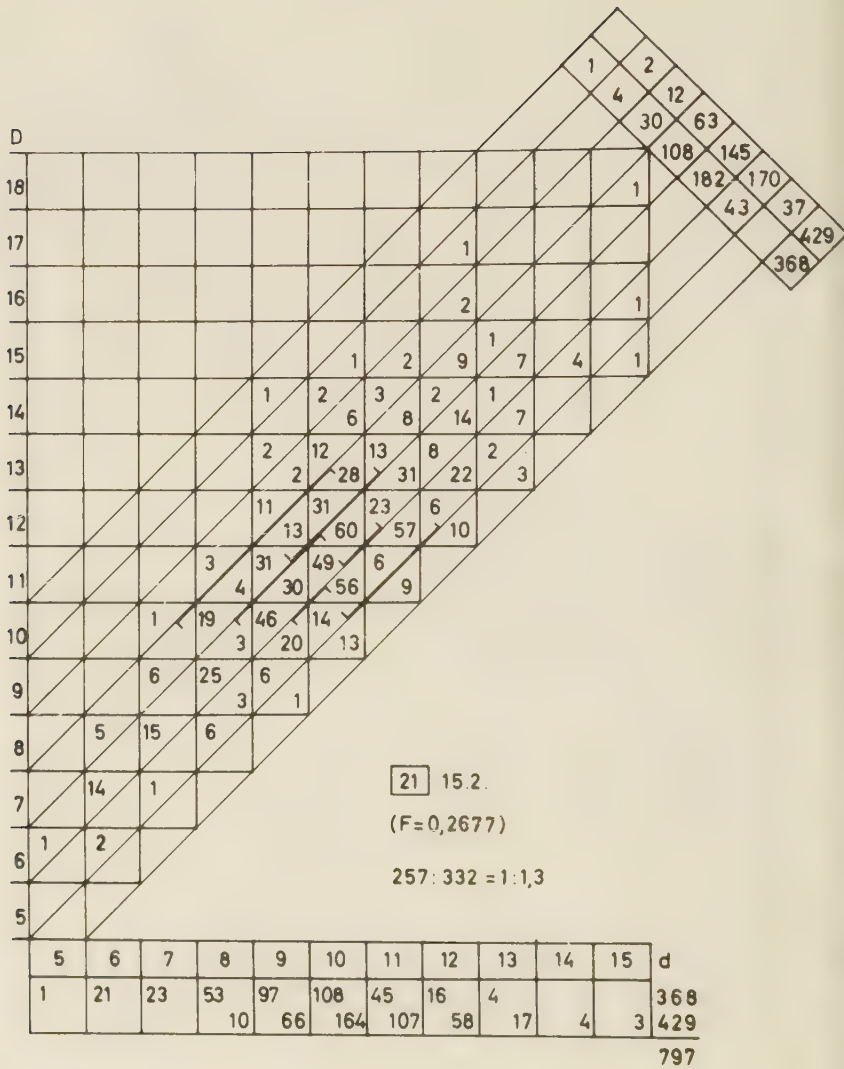




Tafel 24







Tafel 27

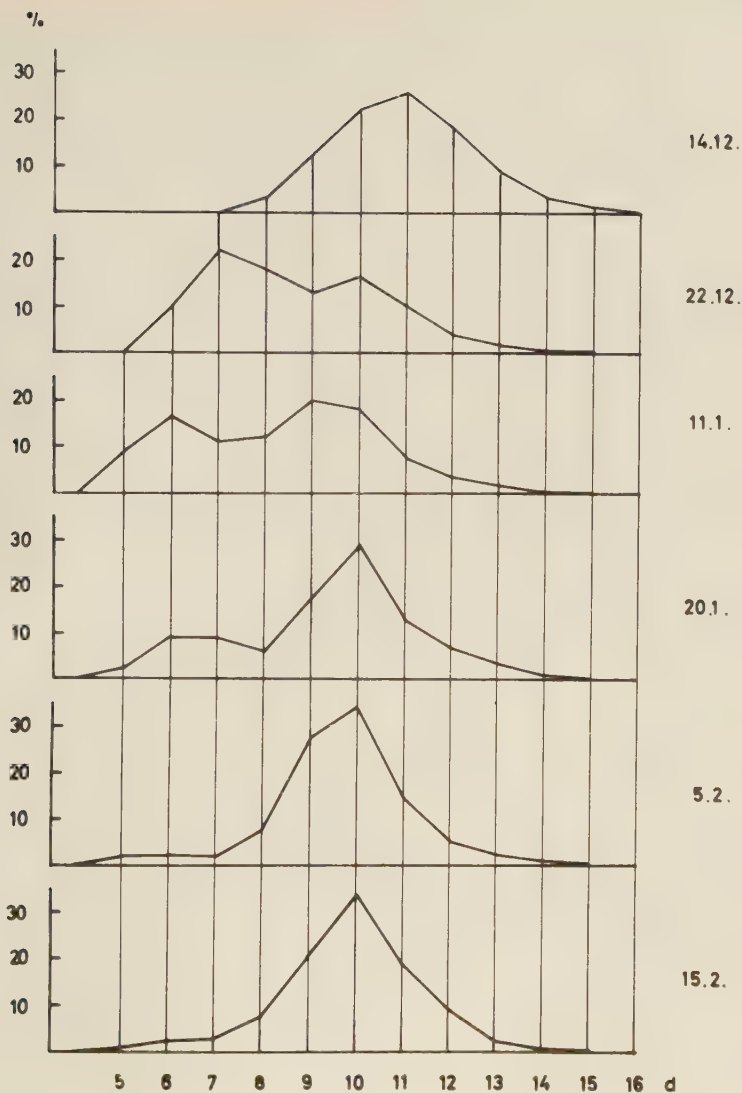


Abb. 4: Größenverschiebung der Zellkerne, gemessen am kleinen Durchmesser d, im Zeitablauf (Fall 21)

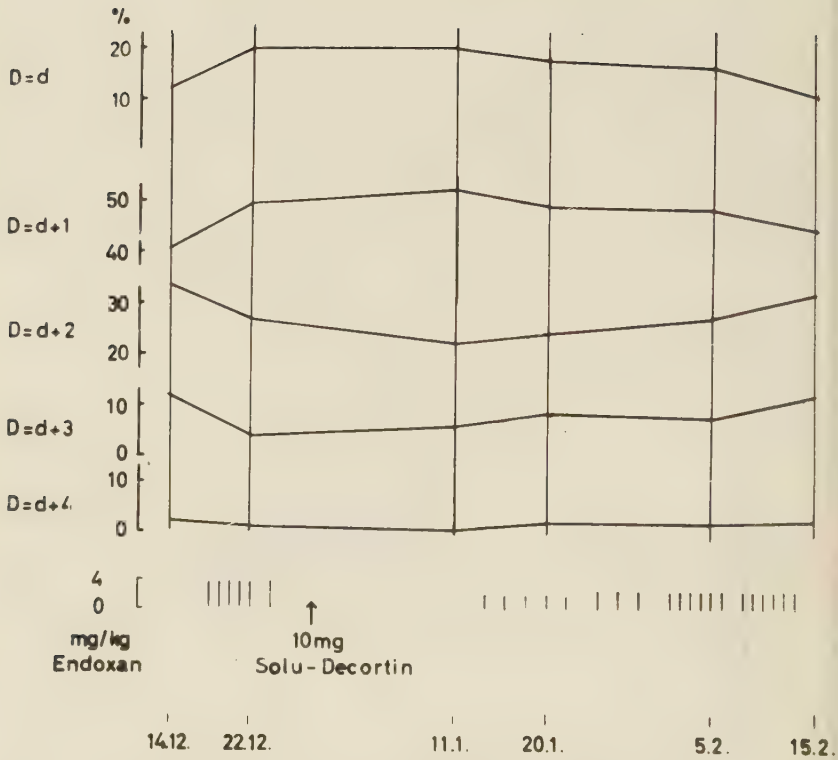


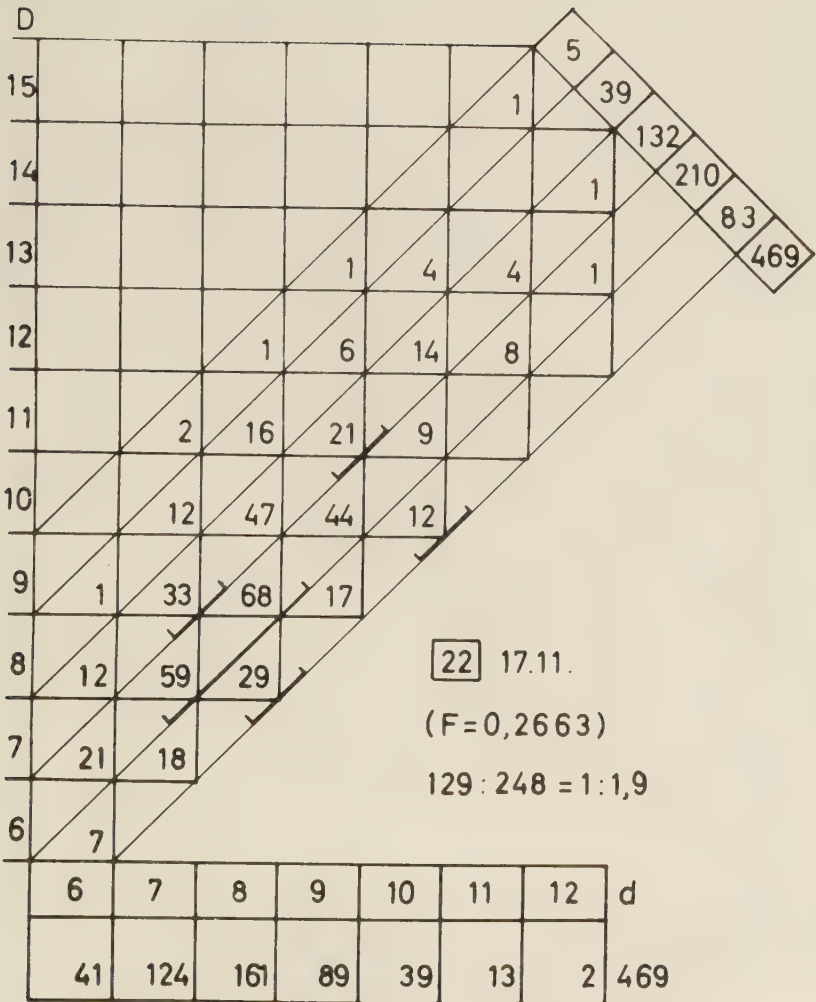
Abb. 5: Veränderung der Ovalität der Zellkerne im Zeitablauf (Fall 21)

Die deutlichste Größenverschiebung ergab sich nach Einsetzen der ersten Behandlungsperiode mit Endoxan^o (14.12. - 22.12.). Wir sahen, daß trotz dieser Veränderung noch am 22.12. das JACOBJSche Gesetz erfüllt war. Erst danach ging diese Beziehung zwischen den Kernvolumina verloren. Es ist wahrscheinlich, daß für die Umwandlung des Zellbildes im Lymphknoten die Einwirkung des Medikamentes verantwortlich ist. Eine entsprechende Folge fehlte, als nach etwa dreiwöchiger Pause abermals Endoxan^o eingesetzt wurde (20.1.). Man fand jetzt wieder mehr große Kerne. Gleichzeitig war an der wieder zunehmenden Größe der Lymphknoten auch klinisch zu erkennen, daß die Krankheit dem tödlichen Ende zustrebte.

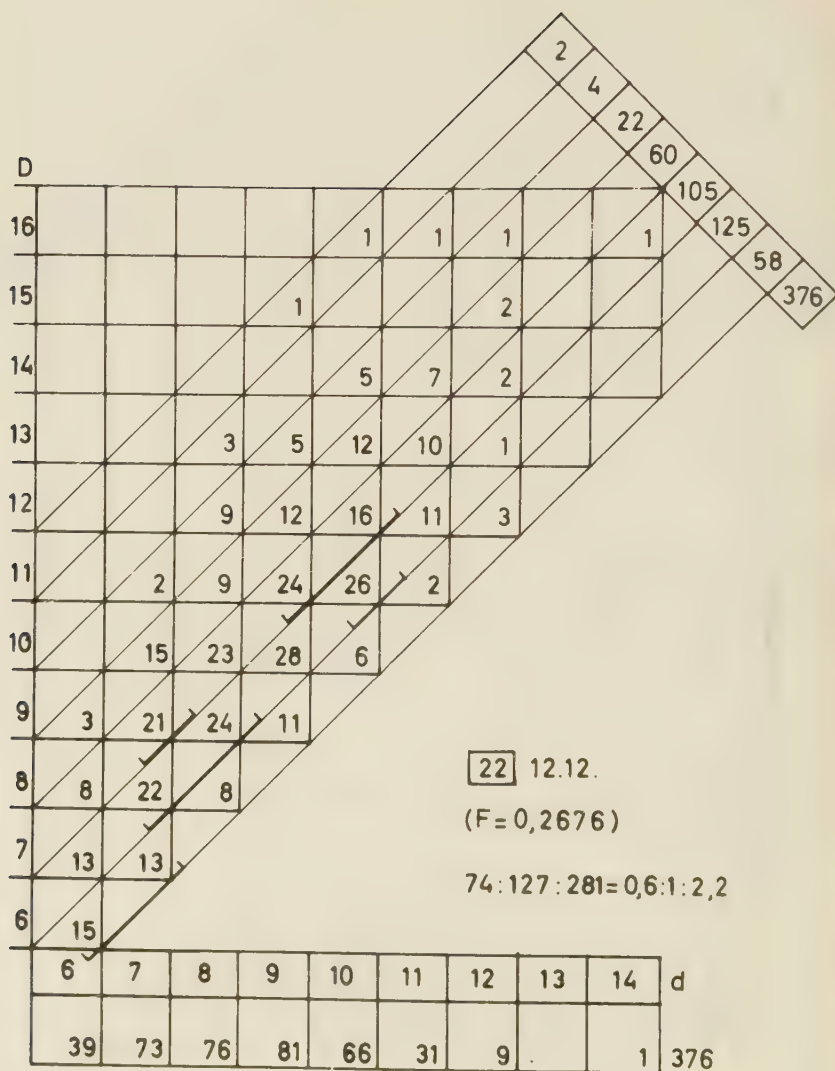
Bemerkenswert ist die Veränderung, die die Kernform der Lymphknotenzellen in der Untersuchungszeit durchmachte. Abb. 5 zeigt die prozentuale Häufigkeit an, in der Kerne der verschiedenen Ovalitätsgrade gefunden wurden. Dabei fällt auf, daß z.Zt. der stärksten Endoxan^o-Wirkung rundliche Zellkerne ($D=d$; $D=d+1$) relativ häufiger wurden. Es bestand demnach zunächst eine Tendenz zur Abrundung der Zellkerne bis sich gegen das Ende hin das ursprüngliche Mengenverhältnis zwischen runden und ovalen Kernen wieder durchsetzte.

Fall 22: Pudel, Rüde, 6 Jahre

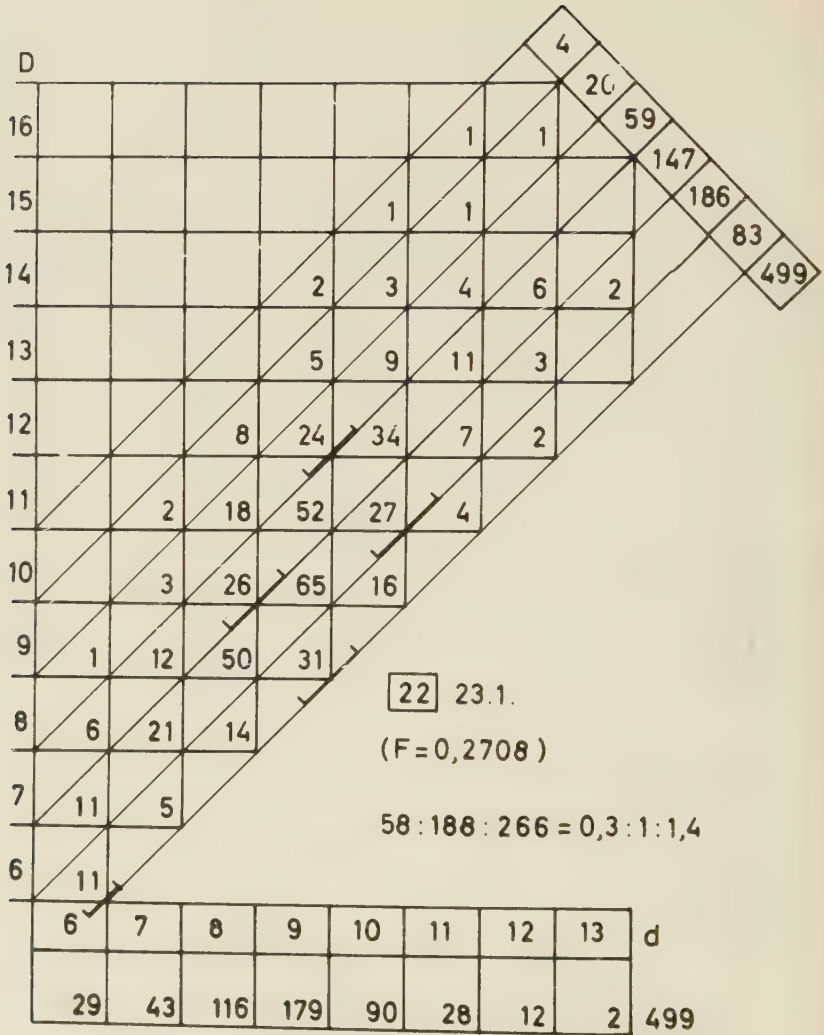
Mäßige Vergrößerung der mandibulären Lymphknoten. Nach Anwendung von Endoxan^o keine überzeugende Abnahme der Lymphknotengröße, deutliche Abnahme jedoch nach der ersten Sanamycin^o-Periode. Am 9.12. linker Ln. mandibularis wieder größer (4 x 1,5 cm). Trotz Sanamycinbehandlung weitere Größenzunahme bis zum 7.1. (6 x 2 cm). Am 23.1. linker Mandibularlymphknoten hühnerei-, rechter walnußgroß. 1.2. - 5.2. Größenabnahme des linken Ln. mandibularis auf Walnußgröße.

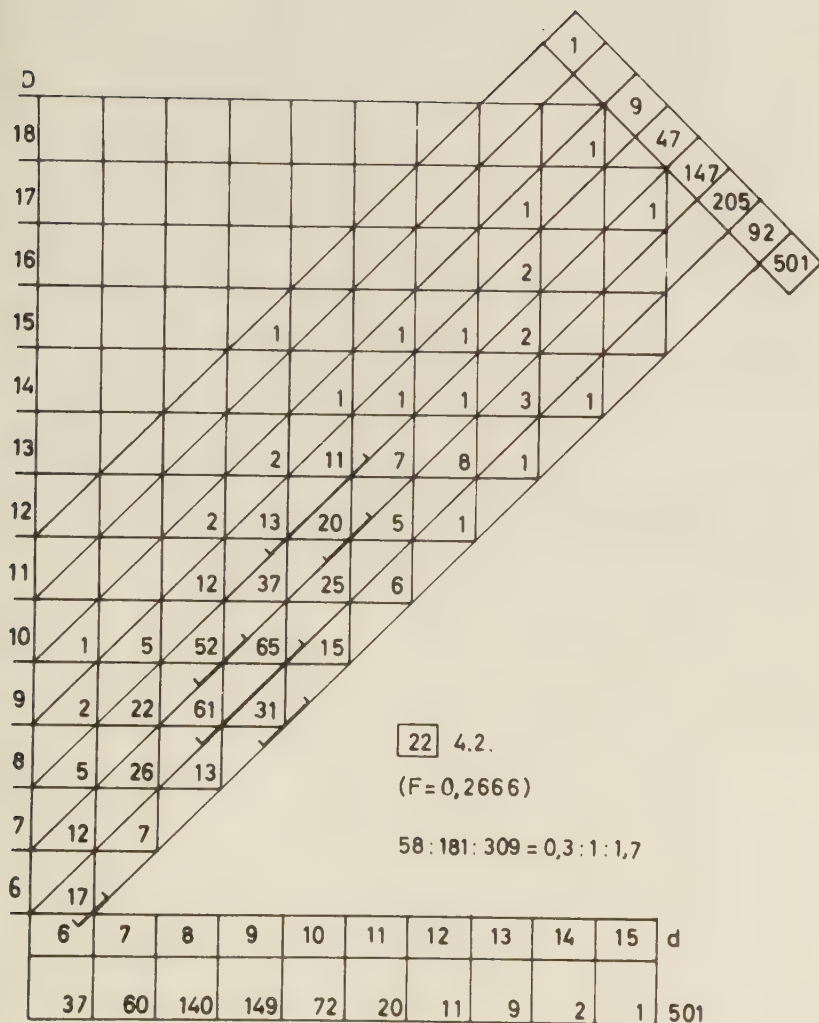


Tafel 31



Tafel 32





Tafel 35

Die Meßergebnisse sind in den Tafeln 28 bis 35 dargestellt. Bei der Einlieferung des Patienten ergab das Lymphknotenpräparat die typischen Volumina 134, 273 und 500 μ^3 ; es gehört damit zur Gruppe B. Die zuerst angewandte Endoxan^o-Behandlung blieb in ihrer Wirkung auf die Größe der Lymphknoten unbefriedigend. Eine im Vergleich zu Fall 21 geringe Größenabnahme der Zellkerne (Abb. 6) ergab sich auch hier; eine Wirkung auf die Ovalität der Kerne war nicht deutlich (Abb. 7). Sie war jedoch ausgeprägt nach der ersten Sanamycin-Periode (9.11.-17.11.) nach der auch die Kerngröße erheblich herabgesetzt war (Abb. 6). Damit einher ging eine Verkleinerung der Lymphknoten. Vierzehn Tage später waren sie wieder größer geworden. Abermals (9.12.) wurde Sanamycin^o verabreicht, diesmal jedoch ohne deutliche Wirkung auf die Lymphknotengröße. Wie aus Abb. 6 ersichtlich, waren am 6.1. große Zellkerne wieder häufig. Ein Versuch, die Lymphknoten mit Corticoiden zu beeinflussen (9.1.-18.1.) veränderte sie zwar makroskopisch nicht, bei der Punktion am 23.1. überwogen jedoch wiederum die kleinen Zellkerne. Schließlich wurde durch nochmalige Applikation von Sanamycin^o und Endoxan^o eine Abschwellung der Lymphknoten erreicht; der Patient war damit nicht zu retten.

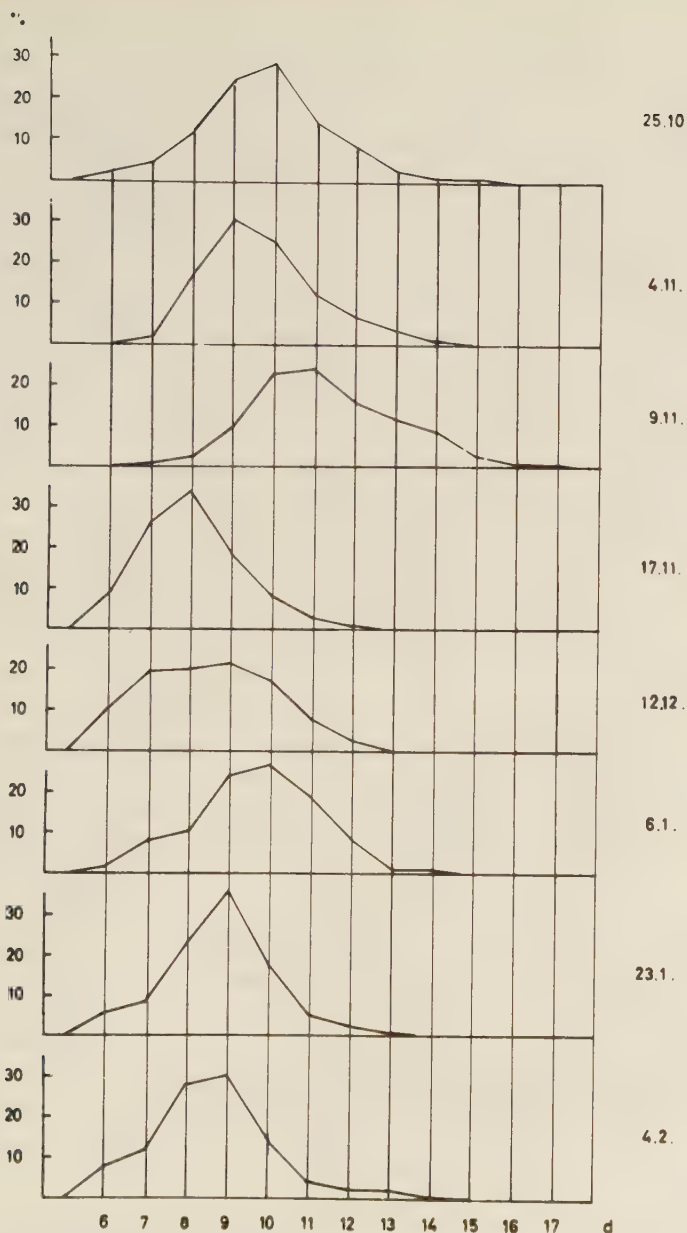


Abb. 6: Größenverteilung der Zellkerne, gemessen am kleinen Durchmesser d , im Zeitablauf (Fall 22)

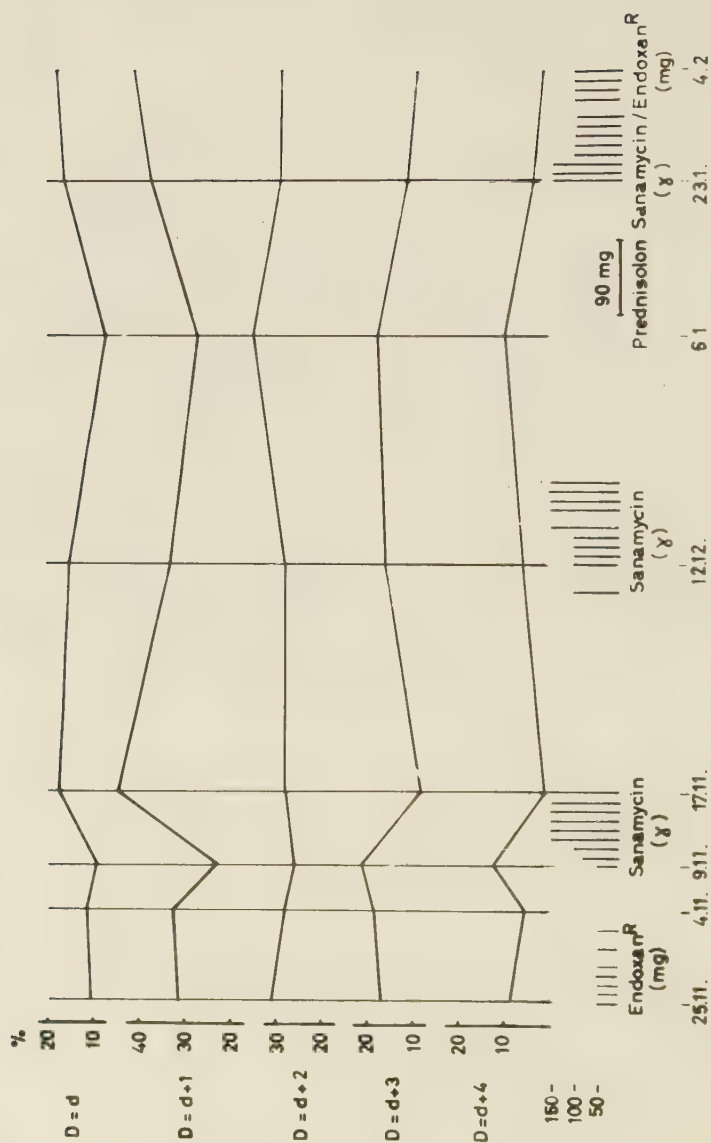


Abb. 7: Veränderung der Ovalität der Zellkerne im Zeitablauf (Fall 22)

Überblicken wir die Ergebnisse der beschriebenen Untersuchungen, so ergibt sich das folgende Bild: Durch Kernmessungen an den Zellen des lymphadenotisch veränderten Lymphknotens vom Hund läßt sich zeigen, daß zwischen den kernvolumina Größenverhältnisse bestehen, die das JACOBSsche Proportionalitätsgesetz erfüllen. Die Volumina der am häufigsten vorkommenden Zellkerne stehen in den meisten Fällen im Verhältnis 1 : 2. Das angewandte Auswertungsverfahren, bei dem nur die häufig vorkommenden Kernformen berücksichtigt werden, ist grob, dafür aber zuverlässig. In den meisten Präparaten ließen sich damit nur zwei Kernklassen, manchmal nur eine ermitteln. Es erwies sich als Vorteil, die Zellkerne nach dem Erscheinungsbild des Chromatins als "helle" und "dunkle" zu unterscheiden. Wenn helle und dunkle Kerne als Mischkollektiv nebeneinander vorkommen, können die Kollektive nach dem Chromatin einzeln erfaßt werden, so daß jedes ein typisches, d.h. am häufigsten vorkommendes kernvolumen liefert. Gewöhnlich sind die hellen Kerne größer als die dunklen. Innerhalb einer Verdopplungsreihe nach JACOBJS können Zellen mit hellen und dunklen Kernen vorkommen.

Wenn bei der Messung von 500 - 1000 Zellkernen das angewandte Verfahren meist nur die sichere Bestimmung von einem oder zwei Häufigkeitsgipfeln der Verteilung gestattet, so bedeutet das nicht, daß im Material nicht auch Zellkerne mit niedrigerer oder höherer Volumenklasse vorkommen; sie sind nur nicht zahlreich genug, um neben dem Streubereich der häufigeren Kernklassen als Gipfelstelle der Häufigkeitsverteilung in Erscheinung zu treten.

Von Zellen, deren Kerngrößen dem JACOBSschen Gesetz folgen, kann man annehmen, daß sie Abkömmlinge des gleichen Zellstammes sind. Symmetrische Zweiteilung und rhythmisches Verdopplungswachstum sind die Ursache für das Zustandekommen der Proportionen 1 : 2 : 4 usw. ihrer Kernvolumina. Wie sich zeigte, liegen bei den Zellen der lymphadenotischen Lymphknoten zwei verschiedene Zellreihen vor, die mit A und B bezeichnet wurden. Jede hat ihre typische Verdopplungsreihe.

Die untersuchten Leukosefälle gliedern sich in solche, bei denen Typ A, und solche, bei denen Typ B vorherrscht. Nur in einem Fall wurden Zellen beider Kerntypen nebeneinander festgestellt. Eine besondere Gruppe von Fällen besaß noch einen als C bezeichneten Kerntyp, der allein oder neben Kernen von Typ A oder B vorkam.

Wird das Meßergebnis an Kernen von Zellen normaler Lymphknoten mit diesen Befunden verglichen, so zeigt sich, daß im normalen Lymphknoten sowohl Typ A als auch Typ B vorkommt. Höhere Kernklassen dieser Typen sind seltener als im lymphadenotischen Lymphknoten, niedrigere Kernklassen häufiger. Die vorherrschenden Kerngrößen beider Zellreihen des normalen Lymphknotens sind bei den Lymphocyten des Blutes ebenfalls gefunden worden. Am Kernvolumen, wenn es nach den vorstehenden Angaben bestimmt wird, läßt sich, soweit es den Kerntyp betrifft, demnach ein Unterschied zwischen den Zellen des normalen und des lymphadenotischen Lymphknotens nicht nachweisen. Es konnte lediglich festgestellt werden, daß im lymphadenotischen Lymphknoten meist entweder der eine oder der andere Typ das Bild bestimmt, und daß die höheren Kernklassen in der Regel häufiger sind als im normalen Lymphknoten.

Zellen mit dem Kerntyp C, die in 5 Fällen festgestellt wurden, gehören offenbar einem dritten Zellsystem an.

Zur Frage nach den Zellarten, die hier durch die Kerntypen A, B und C repräsentiert werden, können nur Vermutungen geäußert werden. GRUNDMANN (1958) unterscheidet Sinus- und Follikellymphocyten. Für beide Typen konnte er sechs Kerngrößenklassen feststellen, wobei die Kerne der Follikellymphocyten immer etwas größer waren als die der Sinuslymphocyten. Nimmt man an, daß die Typen A und B diesen Zellkategorien zuzuordnen seien, so wäre vermutlich Typ B den Follikellymphocyten und Typ A wegen der etwas kleineren Kerne den Sinuslymphocyten zuzurechnen. Von jeder dieser Lymphocytenarten kann eine Lymphadenose ausgehen (LEIBER 1961). Im Rahmen anderer Untersuchungen war an Lymphknotenpunktaten sämtlicher von mir verwendeter Fälle eine GOMORI-Färbung zur Darstellung argentophiler Fasern durchgeführt worden. Nur in einem Fall waren Silberfasern

sicher nachweisbar, und zwar in Fall 16, dem einzigen, bei dem in der vorliegenden Untersuchung ausschließlich das für den Typ C charakteristische Kernvolumen gefunden wurde. Es könnte sein, daß Zellkerne dieser Art die eigentlichen Reticulumzellen kennzeichnen.

Die beiden Leukosefälle, von denen mehrere Lymphknotenpunkte aus einer längeren Behandlungszeit untersucht wurden, ließen sich nur an Hand der ersten Präparate auf Grund der Kernmessungen einem Typ zuordnen (Fall 21 : Typ A; Fall 22 : Typ B). Nach der Einwirkung von Cytostatica war das nicht mehr möglich, weil sich die Kerngrößen, ohne daß das JACOBSsche Gesetz darstellbar blieb, veränderten. Im Gegensatz zu Literaturangaben, nach denen meist von einer Vergrößerung der Zellkerne unter cytostatischer Behandlung berichtet wird, waren in beiden Fällen nach Behandlung kleinere Zellkerne häufiger. Dies wird in den Darstellungen der Häufigkeitsverteilungen nach dem kleinen Kerndurchmesser (Abb. 4 und 6) besonders deutlich. Im Fall 21 trat der Effekt auf, als unter Endoxan^o die Lymphknotengröße deutlich abnahm. Im Fall 22, bei dem die anfangs angewandte Endoxan^o-Therapie nicht befriedigte, erst nachdem die Sanamycin^o-Applikation den Umfang der Lymphknoten reduzierte. Spätere Anwendungen der gleichen Cytostatica, die nicht die gewünschte Verkleinerung der Lymphknoten bewirkten, waren auf die Größenverteilung der Kerndurchmesser ohne nennenswerten Einfluß. Dagegen wurden unter Prednisolon (Abb. 6: 6.1.-23.1.), ohne daß die Lymphknoten merklich kleiner wurden, kleine Zellkerne häufiger. Die Zahl der Fälle ist zu gering, um Schlußfolgerungen aus den Beobachtungen zu ziehen. Es muß vorerst genügen, die Befunde als solche festzustellen.

Z u s a m m e n f a s s u n g

An photographischen Vergrößerungen der Zellbilder von insgesamt 37 Lymphknotenpunktaten bzw. -abklatschpräparaten, die von 22 lymphadenotischen und 3 klinisch gesunden Hunden stammten, wurden die Zellkerngrößen als Rotationsellipsoid bestimmt und die Häufigkeitsverteilungen der Kernvolumina verglichen. Anhand der besonders häufigen ("typischen") Kernvolumina ließ sich das JACOBSsche Gesetz, nach dem die Kernvolumina einer Zellart sich wie 1:2:4 usw. verhalten, auch für die Lymphknotenzellen lymphadenotischer Lymphknoten nachweisen.

Im normalen Lymphknoten traten zwei an den bevorzugt auftretenden Kerngrößen durch das JACOBSsche Gesetz unterscheidbare Zellreihen auf. Den typischen Kerngrößen nach entsprechende Zellreihen wurden auch im lymphadenotischen Lymphknoten gefunden, jedoch war bei 22 Lymphadenosen 6 mal die eine und 10 mal die andere Zellreihe vorherrschend. Nur in einem Fall wurden beide Zellreihen nebeneinander gesehen. In 5 weiteren Fällen wurde karyometrisch, allein oder neben einer der genannten Zellreihen, ein besonderer Zelltyp festgestellt. In lymphadenotischen Lymphknoten waren Kernklassen höherer Ordnung häufiger als im normalen Lymphknoten.

Die in zwei Fällen karyometrisch verfolgte Wirkung von Cytostatica äußerte sich in relativer Abnahme größerer Zellkerne zugunsten kleinerer bei gleichzeitiger Tendenz zur Abnahme der Kernovalität, jedoch nur, wenn die Medikation zu einer Verkleinerung der Lymphknoten führte. Nach einer gewissen Behandlungszeit ließ sich das JACOBSsche Gesetz nicht mehr nachweisen.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1. BAUER, K.H.,
HEILMEYER, L.,
LANG, K. und
SCHWIEGK, H.:

Vergleichende histologische, cyto-
photometrische und biochemische Un-
tersuchungen über die Wirkung von
Endoxan auf das Jensen-Sarkom der
Ratte

Klin.Wschr. 38 (1960) 546-548

2. BIENENGRÄBER, A.,
PUTZKE, H.-P. und
TESSMANN, D.:

Zur Chemotherapie widerstandsfähiger
Transplantationstumoren. Histologi-
sche, enzymhistochemische und ultra-
mikroskopische Untersuchungen über
die Endoxan-Wirkung am Guécerin-
Ratten-Tumor

Zschr.Krebsforsch. 66 (1965) 438-448

3. CASTOLDI, G.L. und
MALACARNE, P.:

Zytochemische und zytogenetische
Aspekte des durch Antimitotika provo-
zierten zellulären Gigantismus

Nouv.Rev.Franc.Hémat. 4(1964)395-408
cit. in ENDOXAN-Sammelreferate
Asta-Werke 6 (1966) 36

4. DEUTICKE, A.:

Kernmessungen und Chromosomenzählun-
gen an menschlichen Geschwülsten

Zschr.Krebsforsch. 43 (1935) 39-53

5. FORNI, A.M.,
KOSS, L.G. und
GELLER, W.:

Zytologische Studie über die Wirkung
von Cyclophosphamid auf das Epithel
der Harnblase beim Menschen

Cancer (Philad) 17 (1964) 1348-1355
cit in ENDOXAN-Sammelreferate
Asta-Werke 2 (1965) 45

6. FREERKSEN, E.:

Ein neuer Beweis für das rhythmische
Wachstum der Kerne durch vergleichend
volumetrische Untersuchungen an den
Zellkernen von Meerschweinchen und
Kaninchen

Zschr.Zellforsch. 18 (1933) 362-399

7. GRUNDMANN, E.:

Karyologische und karyometrische Un-
tersuchungen an Lymphknoten-Punktaten
bei Stickstoff-Lost-Therapie

Zschr.exper.Med. 118 (1952) 489-523

8. GRUNDMANN, E.:

Cytologische Untersuchungen über
Formen und Orte der Lymphocytenrei-
fung bei der Ratte

Verh.dtsch.Ges.Path. 41 (1957)261-268

9. GRUNDMANN, E.: Weitere Untersuchungen über die Lymphocytenbildung
Verh.dtsch.Ges.Path. 42(1958)211-216
10. GRUNDMANN, E.: Der morphologische Nachweis von zwei Lymphocytensystemen beim Menschen
Klin.Wschr. 37 (1959) 941-946
11. HABERMEHL, K.-O.: Prüfung von zytostatischen Substanzen in der Gewebekultur, Einfluß von Trichloräthylenmelamin (TEM) und N,N-Bis-(β -chloräthyl)-N', O-propylenphosphorsäureester-diamid (Endoxan) auf Zellzahl, Pyknoserate, Mitoserate und photometrisch bestimmbare Dichte der Kulturen
Verh.dtsch.Ges.inn.Med.68(1962)266-268
12. HAUSCHILD, F.: Pharmakologie und Grundlagen der Toxikologie
Thieme Leipzig 2. Aufl. (1960)
13. HEIBERG, K.A.: Die leukämischen und leukotischen Atypien und Geschwülste und das Wesen der Leukämie
Thieme Leipzig 1953
14. HEIDENHAIN, M.: Plasma und Zelle
Jena 1907
cit. bei JACOBJ (18)
15. HERTWIG, R.: Über Korrelation von Zell- und Kerngröße und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenz und die Teilung der Zelle
Biolog.Zentr.Blatt 23 (19/3) 49
16. HILLER, G.: Theoretische und methodische Grundlagen der Kernmessung, Verzicht auf Volumenberechnungen
Zschr.mikrosk.anat.Forsch. 72 (1965) 317-343
17. HINTZSCHE, V.E.: Statistische Probleme aus der Kerngrößenforschung
Experientia 1 (1945) 1-24
18. JACOBJ, W.: Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch Verdopplung ihres Volumens
Arch.Ent.mech.Organ.106(1925)124-192

19. JACOBJ, W.: Volumetrische Untersuchungen an den Zellkernen des Menschen und das allgemeine Problem der Zellkerngröße
Verh.anat.Ges. (1931) 236-245
20. JACOBJ, W.: Die verschiedenen Arten des gesetzmäßigen Zellwachstums und ihre Beziehung zu Zellfunktion, Umwelt, Krankheit, maligner Geschwulstbildung und innerem Bauplan
Arch.Ent.Mech.Organ. 141(1942)584-692
21. KRAUSE, G.: Das lymphatische Gewebe und seine Kerngrößen
Med.Diss. Rostock 1935
22. LEIBER, B.: Der menschliche Lymphknoten
Urban & Schwarzenberg, München-Berlin 1961
23. LENNERT, K. und REMMELE, W.: Karyometrische Untersuchungen an Lymphknotenzellen des Menschen
1. Mitteilung: Germinoblasten, Lymphoblasten und Lymphocyten
Acta haemat. 19 (1958) 99-113
24. MAHOOD, M.E. und JOHNSTON, B.: Ansprechen von Sarkom 37-Zellen auf 3 Chemotherapeutika
Acta.Cytol.(Philad.) 7(1963)118-125
cit. in ENDOXAN-Sammelreferate
Asta-Werke 4 (1964) 30
25. MASSHOF, W. und VOGEL, A.: Zur Ortho- und Pathologie der Lymphknoten
Sandorama 1 (1967) 4-7
26. du MESNIL de ROCHEMENT, R., RINGLEB, D. und SCHNEIDER, H.: Therapeutische Erfahrungen mit der Kombination von Röntgenbestrahlungen und einem Zytostaticum in Modellversuchen am Jensen-Sarkom der Ratte
Strahlentherapie 109 (1959) 211-225
27. MICHAELIS, A. und RIEGER, R.: Die Induktion von Chromosomenaberrationen durch MITOMEN und ENDOXAN bei Vicia faba und der Transportform-Wirkform-Mechanismus
Biol.Zbl. 80 (1961) 301-317

28. v.MICKWITZ, C.U. und
NIEPAGE, H.: Kernmessungen an Lymphocyten des
Rindes
Berliner Münchener tierärztl.Wschr.
72 (1959) 31 - 33
29. NEUMANN, K.: Die Morphokinetik der Schilddrüse.
Studie über die akuten Veränderungen
im Bau eines endokrinen Organs in
Abhängigkeit von seiner Leistung
Stuttgart 1963
cit. bei HILLER (16)
30. NIEPAGE, H.: Untersuchungen über das Differential-
blutbild des Rindes
Habil.Schrift Berlin 1960
31. NIEPAGE, H.: Kernmessungen an Zellen von Lymph-
knotenpunktaten von Hunden mit
Lymphadenose
Kongr.Dtsch.Veterinärmed.Ges.
Bad Nauheim 1967
32. PALME, G.,
LISS, E.,
OEFF, K. und
PLATIS, A.: Der Einfluß von Cyclophosphamid auf
die DNS-Synthese von normalen proli-
ferierenden Zellen sowie Aszites-
Tumorzellen
Arzneimittel.-Forsch. 13(1963)
1034-1039
cit. in ENDOXAN-Sammelreferate
Asta-Werke 4 (1964) 19
33. PALME, G.,
LISS, E. und
WIEBEL, F.: Autoradiographische Untersuchungen
über das Verhalten einzelner Inter-
phaseabschnitte des Dünndarmepithels
der Maus unter der Einwirkung von
Cyclophosphamid (Endoxan)
Naturwiss. 51 (1964) 197
cit. in ENDOXAN-Sammelreferate
Asta-Werke 5 (1965) 12
34. POPKES, B.: Über Größe und Polymorphie der Zell-
kerne bei Lymphadenose und Lympho-
sarkom
Frank.Zschr.Path. 66 (1955) 252-267
35. REPSILBER, M.: Über die Kerngrößen einiger Lymph-
knotengeschwülste
Med.Diss. Rostock 1935

36. RINGLEB, D.,
SCHERER, F. und
SCHNABEL, E.:
Therapeutische Erfahrungen mit der
Kombination von Röntgenbestrahlungen
und einem Zytostaticum in Modellver-
suchen am Jensen-Sarkom der Ratte
Strahlentherapie 112 (1960) 273-279
37. SCHAIRER, E.:
Kernmessungen und Chromosomenzählun-
gen an menschlichen Geschwülsten
Zschr.Krebsforsch. 43 (1935) 1-39
38. SCHERER, E.:
karyometrische Untersuchungen bei
Sarkomen und Melanomalignomen vor und
während der Bestrahlung
Strahlentherapie 109 (1959) 28-39
39. SCHMIDT, C.G. und
THEMANN, H.:
Elektronenmikroskopische Untersuchun-
gen an Tumorzellen und ihre Beein-
flussung durch zytostatische Behand-
lung
Zschr.Krebsforsch. 63 (1960) 351-361
40. SCHULZE, G.:
Kernmessungen an Lymphocyten des
Hundes
Vet.med.Diss. FU Berlin 1962
41. TAKEDA, K. und
NAKAI, Y.:
Morphological studies on lymphocytes
in lymphatic leukaemia and pertussis,
especially in extensibility of cell
bodies
Nippon Ketsueke Gakkai Zasshi
14 (1951) 315-318
42. THEMANN, H.:
Elektronenmikroskopische Untersuchun-
gen an isolierter DNS von Ehrlich-
Aszitestumorzellen nach Behandlung
mit Endoxan
Chemotherapie maligner Tumoren
F.K. Schattauer-Verlag Stuttgart 1964
43. TREPPENHAUER, H.-J.:
Kernmessungen an Lymphocyten kranker
Hunde
Vet.med.Diss. FU Berlin 1965
44. VORBECK, F.W.:
Über die Kerngrößen lymphatischen
und lymphoiden Gewebes
Med.Diss. Rostock 1935
45. VOSS, H.:
Die Volumenbestimmung kugelförmiger
Kerne mit der indirekten oder Plani-
metriermethode
Anat.Anz. 98 (1951) 41-46
cit. bei LENNERT & REMMELE (23)

46. WEILAND, G.:

Kernmessungen an Rundzellen im
gefärbten Blutausstrich leukosekran-
ker Hunde

Vet.med.Diss. FU Berlin 1965

47. YAMAGUCHI, K.,
IWAKI, T. und
NAGAI, K.:

Aktivität von Endoxan bei Tumortieren

Saishin Igaku 15 (1960) 3220-3230
cit. in ENDOXAN-Sammelreferate
Asta-Werke 2 (1962) 17

Für die Überlassung des Themas und Hilfe
bei der Auswertung der Ergebnisse danke
ich Herrn Prof. Dr. Niepage.

Lebenslauf

Am 6. Dezember 1942 wurde ich als Tochter des Kunstmalers Kurt Busch und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Schödel, in Nürnberg geboren.

Die Volksschule besuchte ich von 1949-1953 in Muggendorf/Ofr. und Nürnberg. Anschließend trat ich in das humanistische Melanchthon-Gymnasium in Nürnberg ein, an dem ich 1961 das Abitur ablegte.

Im Wintersemester 1961/62 begann ich das Studium der Veterinärmedizin an der Universität München. Hier bestand ich nach 4 vorklinischen Semestern die Tierärztliche Vorprüfung.

Nach einem klinischen Semester an der Universität München wechselte ich im Sommersemester 1964 für 1 Semester an die Tierärztliche Hochschule Wien. Am 13. Juli 1966 legte ich die Tierärztliche Prüfung an der Universität München ab und erhielt nach der Praktikantenzeit am Schlachthof Nürnberg und an der Klinik und Poliklinik für Kleine Haustiere der Freien Universität Berlin am 1. März 1967 meine Approbation als Tierärztin. Anschließend übernahm ich Vertretungen und war als wissenschaftliche Hilfskraft an der Klinik und Poliklinik für Kleine Haustiere der Freien Universität Berlin beschäftigt.

